

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni



DIZERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Jolana Mračková

Neurologická klinika LF UK a FN Plzeň

**Význam krevních biomarkerů
u spontánního intracerebrálního krvácení**

**Role of blood biomarkers
in spontaneous intracerebral hemorrhage**

Školitel: MUDr. Jiří Polívka, CSc.

Plzeň 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou dizertační práci vypracovala samostatně. Veškeré literární zdroje, z nichž bylo při přípravě práce čerpáno, jsou řádně citovány v seznamu literatury. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s uložení elektronické verze této práce v informačním systému Univerzity Karlovy a také s možností zapůjčení tištěné verze této práce.

V Plzni

MUDr. Jolana Mračková

ABSTRAKT

Význam krevních biomarkerů u spontánního intracerebrálního krvácení

Úvod:

Nové možnosti v diagnostice, určení etiologie, stanovení prognózy a v managementu léčby nemocných se spontánním intracerebrálním krvácením může přinést studium krevních biomarkerů. Cílem naší studie bylo zhodnotit vztah panelu vybraných krevních biomarkerů a klinických a radiodiagnostických parametrů u nemocných se spontánním intracerebrálním krvácením, především nalézt prognostický biomarker, který by napomohl v rozhodování o optimální kategorizaci léčby.

Soubor a metodika:

Do studie bylo prospektivně zařazeno 70 pacientů. Stanovovány byly krevní biomarkery: gliální fibrilární acidický protein, S100B protein, matrix metaloproteináza 9, interleukin 6, interleukin 10, 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, celkový cholesterol, počet leukocytů, glykemie, C-reaktivní protein. Byly provedeny korelace s vybranými klinickými a radiodiagnostickými parametry.

Výsledky:

Ve vztahu k objemu hematomu byla nalezena statisticky významná pozitivní korelace hodnoty S100B, interleukinu 10, interleukinu 6 a glykemie (S100B: $\rho = 0,54$, $p < 0,001$, IL-10: $\rho = 0,43$, $p < 0,001$, IL-6: $\rho = 0,26$, $p = 0,027$, glykemie: $\rho = 0,24$, $p = 0,045$).

S progresí hematomu jsou na základě vícerozměrné analýzy statisticky významně asociované: matrix metaloproteináza 9 [ug/ml] (OR 0,10; $p = 0,007$), kdy nižší hodnoty predikují progresi hematomu, a S100B nad 0,15 [$\mu\text{g/l}$] (OR 6,77; $p = 0,011$), kdy vyšší hodnoty predikují progresi hematomu.

Pacienti s hodnotami S100B nad 0,15 $\mu\text{g/l}$ mají čtyřikrát menší šanci dosáhnout příznivého výsledného klinického stavu (OR 0,26; $p = 0,034$).

S tříměsíční mortalitou nebyl při vícerozměrné analýze statisticky významně asociován žádný ze zkoumaných laboratorních parametrů.

Závěr:

Vyšší hladiny S100B jsou asociovány s větším objemem hematomu, predikují jeho progresi a nepříznivý výsledný klinický stav. Pozitivně korelují s objemem hematomu i hladiny interleukinu 6, interleukinu 10 a glykemie. Nižší hladiny matrix metaloproteinázy 9

jsou nezávislým prognostickým faktorem pro progresi hematomu u nemocných se spontánním intracerebrálním krvácením.

Význam pro klinickou praxi a budoucnost:

Navzdory dosud publikovaným studiím žádný krevní biomarker intracerebrálního krvácení nebyl zatím začleněn do běžné klinické praxe. Řada krevních biomarkerů je spojena s rozličnými patofyziologickými ději u intracerebrálního krvácení a některé z nich mají potenciál přinést užitek v managementu nemocných s touto diagnózou. Do budoucna je zapotřebí dobře designovaných studií (optimálně multicentrických) na dostatečně rozsáhlých souborech.

SUMMARY

Role of blood biomarkers in spontaneous intracerebral hemorrhage

Background:

The study of blood biomarkers can offer new possibilities in diagnostics, prognostication, determination of etiology, and management of spontaneous intracerebral hemorrhage. The aim of our study was to assess the relationship between a panel of selected blood biomarkers and clinical and radiodiagnostic parameters in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage. Primarily, the aim was to find a prognostic biomarker which could help in deciding on the optimal categorization of treatment.

Patients and methods:

A total of 70 patients were prospectively included in this study. The following blood biomarkers were determined: glial fibrillary acidic protein, S100B protein, matrix metalloproteinase 9, interleukin 6, interleukin 10, 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, total cholesterol, leukocyte counts, blood glucose and C-reactive protein. These were then correlated with selected clinical and radiodiagnostic parameters.

Results:

Relative to hematoma volume a statistically significant positive correlation was found for S100B, interleukin 10, interleukin 6 and blood glucose (S100B: $\rho = 0,54$, $p < 0,001$, IL-10: $\rho = 0,43$, $p < 0,001$, IL-6: $\rho = 0,26$, $p = 0,027$, blood glucose: $\rho = 0,24$, $p = 0,045$).

Using multivariate analysis, a significantly positive correlation was found between hematoma progression and matrix metalloproteinase 9 [ug/ml] (OR 0,10; $p = 0,007$) - lower values predict hematoma progression, and also S100B above 0,15 [$\mu\text{g/l}$] (OR 6,77; $p = 0,011$) - higher values predict hematoma progression.

Patients with S100B above 0,15 $\mu\text{g/l}$ are four times less likely to achieve a favorable outcome (OR 0,26; $p = 0,034$).

None of the evaluated laboratory parameters were shown by multivariate analysis to have a significant association with three-month mortality.

Conclusion:

Higher levels of S100B are associated with larger hematoma volume. They predict hematoma progression and an unfavorable outcome. One other positive correlation was found between hematoma volume and interleukin 6, interleukin 10 and blood glucose. Lower levels

of matrix metalloproteinase 9 are an independent prognostic factor for hematoma progression in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage.

Clinical consequences and the future:

Despite of studies published so far, no blood biomarker of intracerebral hemorrhage has been implemented into clinical routine yet. Numerous blood biomarkers are associated with different pathophysiological pathways of intracerebral hemorrhage and some of them have potential to be useful in the management of patients with this diagnosis. For the future well-designed, large-scale (multicentric) studies are needed.

OBSAH

| | |
|--|----|
| 1 Úvod | 8 |
| 2 Současný stav výzkumu | 10 |
| 2.1 Úvod do problematiky intracerebrálních krvácení | 10 |
| 2.2 Patofyziologie intracerebrálního krvácení | 11 |
| 2.3 Terapie intracerebrálního krvácení | 14 |
| 2.4 Prognóza nemocných s intracerebrálním krvácením | 18 |
| 2.5 Organizace iktové péče v České republice | 19 |
| 2.6 Krevní biomarkery, historie výzkumu | 22 |
| 2.7 Krevní biomarkery u intracerebrálního krvácení | 24 |
| 3 Panel krevních biomarkerů vybraných do studie | 26 |
| 3.1 Gliální fibrilární acidický protein (GFAP) | 26 |
| 3.2 S100B protein | 27 |
| 3.3 Matrix metaloproteináza 9 (MMP-9) | 28 |
| 3.4 Interleukiny 6 a 10 (IL-6, IL-10) | 29 |
| 3.5 Vitamin D (25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D) | 31 |
| 3.6 Cholesterol | 32 |
| 3.7 Počet leukocytů | 33 |
| 3.8 Glykemie | 34 |
| 3.9 C-reaktivní protein (CRP) | 35 |
| 4 Cíl práce | 37 |
| 5 Metodika | 38 |
| 5.1 Vstupní a vylučující kritéria | 38 |
| 5.2 Stanovované krevní biomarkery | 39 |
| 5.3 Sledované klinické a radiodiagnostické parametry | 40 |
| 5.4 Imunoanalytické metody | 42 |
| 5.5 Biochemické (bioanalytické) metody | 42 |
| 5.6 Statistická analýza | 43 |
| 6 Výsledky | 44 |
| 6.1 Demografická charakteristika souboru | 44 |
| 6.2 Objem hematomu | 46 |
| 6.3 Progrese hematomu | 49 |
| 6.4 Příznivý výsledný klinický stav po třech měsících | 52 |
| 6.5 Mortalita po třech měsících | 56 |
| 7 Diskuze | 57 |
| 8 Budoucnost krevních biomarkerů u intracerebrálního krvácení, význam pro klinickou praxi | 62 |
| 9 Závěr | 64 |
| 10 Seznam použitých zkratk | 65 |
| 11 Seznam obrazových příloh | 67 |
| 12 Literatura | 68 |
| 13 Publikační aktivita | 76 |

1 ÚVOD

Spontánní (netraumatické) intracerebrální krvácení (intracerebrální hemoragie – ICH) je závažné a často devastující onemocnění s nejistou prognózou i při intenzivní léčbě a s poměrně vysokou mortalitou – 30denní mortalita dosahuje 40%, roční mortalita až 50%. Přibližně k polovině úmrtí dochází v prvních 24 hodinách od vzniku příznaků [Elliot 2010]. Pouze 20% přežívajících se během šesti měsíců od příhody vrací do stavu nezávislosti na druhé osobě [van Asch 2010], velmi častý je těžký reziduální deficit. Tyto počty se v posledních dvou desetiletích nemění, a klinické výstupy nemocných s intracerebrálním krvácením tak zůstávají horší ve srovnání s nemocnými s ischemickou cévní mozkovou příhodou, jejichž šance dosáhnout dobrého výsledného klinického stavu se dramaticky zvýšily především s rozvojem metod rekanalizační terapie. V současnosti je kladen důraz na hospitalizaci optimálně všech nemocných s cévní mozkovou příhodou (přínejmenším pak těch v akutním stádiu) na specializovaných pracovištích.

Nové možnosti v diagnostice, v určení etiologie, stratifikaci rizika, stanovení prognózy, v rozhodování o léčbě a monitorování účinnosti léčby nemocných s intracerebrálním krvácením by mohlo přinést studium krevních biomarkerů (blood biomarkers – BBM). Vzhledem k tomu, že žádný z dosud zkoumaných BBM se do běžné klinické praxe nezačlenil, je otázka jejich skutečného přínosu opakovaně diskutována a k překonání jejich limitů bylo vynaloženo již mnoho úsilí. Komplexní analýza různých typů biomarkerů zároveň zlepšuje pochopení patofyziologických mechanismů ICH, podporuje mimo jiné vývoj screeningových nástrojů pro vysoce rizikové nemocné, prediktivních modelů pro výsledný klinický stav a racionální terapii přesně cílenou pro konkrétního nemocného [Kim 2013].

Biomarkerem může být jak specifická buňka, tak celá molekula, může se jednat o enzymy, hormony, ale i geny. Genetické markery se do budoucna jeví jako schopné predikce chorob, konkrétně třeba právě rizikových faktorů cerebrovaskulárních a kardiovaskulárních onemocnění – bylo by tak možné geneticky predikovat jedince se sklonem k ateroskleróze, arteriální hypertenzi, obezitě, diabetu,...Z toho plynou možnosti individualizované léčby, o kterou usiluje mladý multidisciplinární obor „prediktivní, preventivní a personalizovaná medicína“. Takovýto přístup je potřebný zejména proto, že nemocní s cévní mozkovou příhodou obecně, a s intracerebrálním krvácením konkrétně, jsou velmi heterogenní skupinou.

Cévní mozkové příhody (CMP) jsou stále druhou nejčastější příčinou mortality a jednou z hlavních příčin morbidity a trvalé disability ve vyspělých zemích. Cerebrovaskulární problematika patří k rychle se rozvíjejícím odvětvím neurologie a je specifická tím, že v sobě snoubí prvky i jiných oborů, především interního lékařství, radiologie, anesteziologie a intenzivní medicíny, ale i rehabilitace a paliativní péče. Více než jiné neurologické specializace také vyžaduje rychlost – v rozhodování, diagnostice, léčbě. Není tedy divu, že je neutuchající snahou proces péče o nemocné s cévní mozkovou příhodou co nejvíce zkvalitnit a vnést do něj dříve netušené možnosti, k čemuž snad již v blízké budoucnosti napomůže právě výzkum krevních biomarkerů.

2 SOUČASNÝ STAV VÝZKUMU

2.1 Úvod do problematiky intracerebrálních krvácení

Mezi všemi cévními mozkovými příhodami tvoří intrakraniální hemoragie 20%. Tato krvácení se dělí na dvě hlavní skupiny, a sice intracerebrální hemoragie, které se vyskytují v 10-15%, a subarachnoideální krvácení, čítající přibližně 5% z celkového počtu. Menší procento představují krvácení intraventrikulární. Ne vždy je však možné hemoragický iktus kategorizovat do jedné z těchto skupin, neboť rozdělení krve při intrakraniální hemoragii mezi kompartment mozkové tkáně, intermeningeální a komorový kompartment se v mnoha případech mísí. Tato práce se zabývá spontánními, tedy netraumatickými, intracerebrálními hemoragiemi.

Etiologicky se nejčastěji uplatňuje arteriální hypertenze s rupturou malých perforujících arterií. Na malých arteriích (o průměru 100-300 μm), především větvích laterální lentikulostriatární arterie v bazálních gangliích, je prokázán výskyt aneurysmat, k ruptuře malých perforujících arterií může ale dojít i bez předchozí aneurysmatické dilatace v důsledku degenerativních změn cévní stěny. Až v 20% je příčinou intracerebrální hemoragie mozková amyloidní angiopatie, zejména u starších nemocných. Mezi méně časté příčiny patří krvácení z arteriovenózní malformace, z kavernomu či aneurysmatu, dále stavy zvýšené krvácivosti (hemoragické diatézy) jako hemofilie, purpury, trombocytopenie, leukemie a další. Neopominutelnou skupinou jsou i krvácení vznikající v důsledku antikoagulační léčby, ať už warfarinem, heparinem či přímými orálními antikoagulancii. Zejména u mladších jedinců může být krvácení spojeno i s abusem drog (kokain, pseudoefedrin, amfetamin).

Lokalizace intracerebrálního hematomu je nejčastěji v hlubokých mozkových strukturách (55%), v mozkových lalocích (30%), méně v mozečku (10%) a mozkovém kmeni (5%).

Jedná se o akutní stavy, především hematomy v zadní jámě bývají život bezprostředně ohrožujícím stavem, neboť omezená compliance v zadní jámě může velmi rychle vést k herniaci mozkové tkáně a rozvoji konusových příznaků.

2.2 Patofyziologie intracerebrálního krvácení

ICH je kaskádou patofyziologických procesů. Podstatou spontánního nitrolebečního krvácení je provalení krve prasklou cévní stěnou do okolí, tímto okolím je podle lokalizace postižené cévy mozková tkáň nebo likvor – komorový, či intermeningeální [Kalvach 2010]. Postižení mozkové tkáně vychází nejen z prvotního inzultu, ale i ze sekundárního poškození během subakutního období. S tímto dvoufázovým modelem pracuje také mnoho současných teorií – časná fáze je brána jako mechanické poškození, subakutní pak jako fáze zánětu a edému jako odpovědi na krvácení [Keep 2012], současně se aktivuje neuroendokrinní stresová osa. Během prvních zhruba 60 minut po úvodním inzultu krev provalená do mozkového parenchymu vede ke kompresi anatomických struktur a zvýšení nitrolebního tlaku, snížení krevního průtoku a k přímé mechanické destrukci axonů a gliálních buněk [Qureshi 2009].

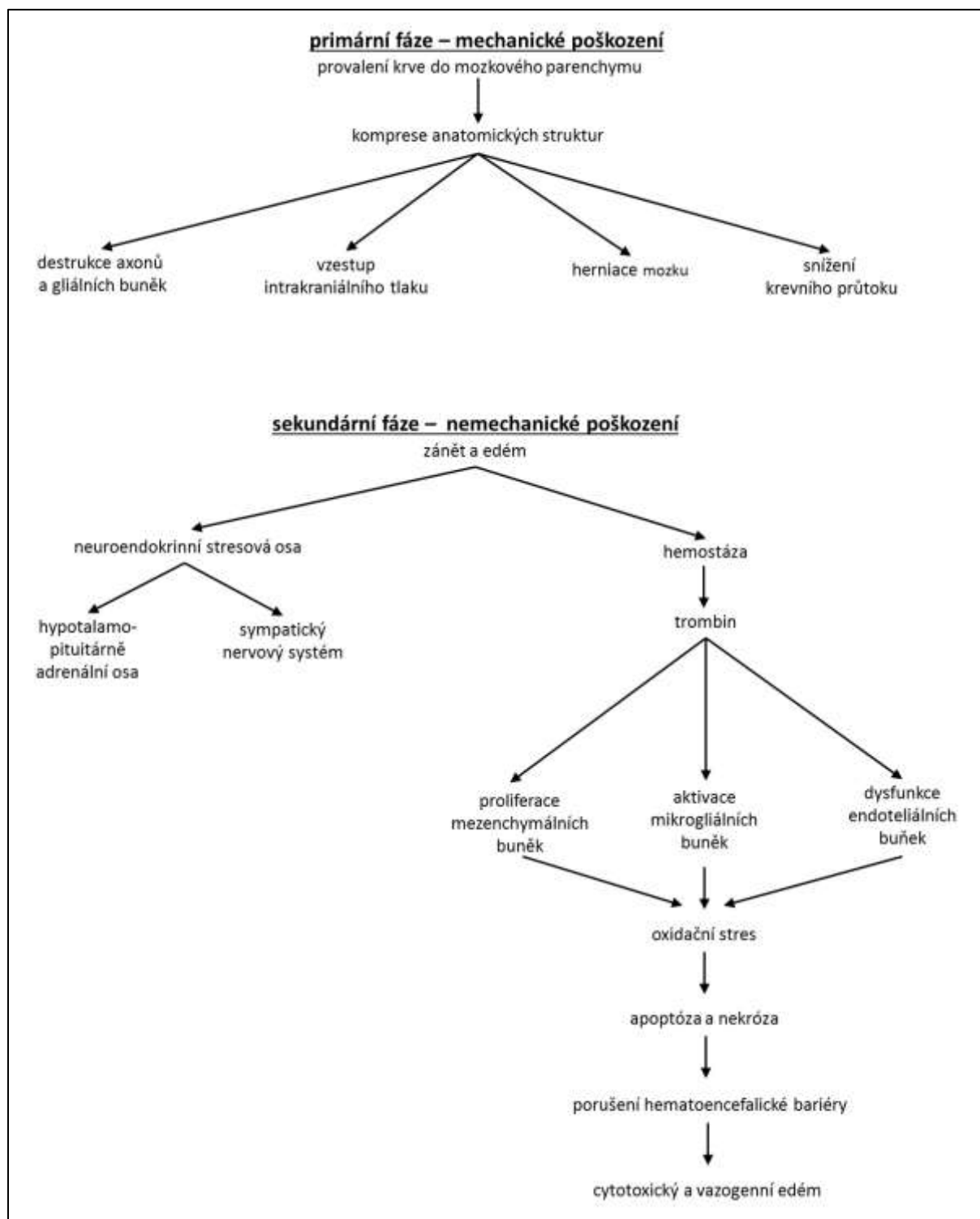
Za sekundární fázi (v řádech hodin až dnů) je považováno nemechanické poškození, které ústí jednak v růst hematomu, jednak v růst perifokálního edému. Na formaci edému se podílí mnoho buněčných i molekulárních mechanismů. Tyto mechanismy jsou velmi komplikované, zahrnují vazogenní faktory, formaci trombinu, lýzu erytrocytů a další. Trombin ovlivňuje různé typy buněk – způsobuje proliferaci mezenchymálních buněk, aktivuje mikrogliální buňky k uvolnění zánětlivých mediátorů a způsobuje dysfunkci endoteliálních buněk. Oxidační stres poté vede k apoptóze, nekróze, k porušení hematoencefalické bariéry a vzniku edému (obrázek 1). Během prvních 24 hodin se edém zvětší o 75% [Zazulia 1999] a jeho rozsah koreluje s velikostí hematomu [Xi 2004]. Experimentální studie prokázaly různé typy edému v závislosti na etiopatogenezi a době vzniku. Etiopatogeneticky se jedná o edém vazogenní a cytotoxický. Tyto dva typy edému spolu interagují, a vytvářejí tak circulus vitiosus. Z časového hlediska rozlišujeme edém primární, vznikající v prvních hodinách, a sekundární, vznikající během prvních dvou dnů po krvácení, tyto je možné zařadit mezi časně formy edému. Mimo tyto se pak až po třech dnech rozvíjí edém pozdní, způsobený lýzou erytrocytů a hemoglobinem indukovanou neurotoxitou [Xi 1998].

V reakci na akutní krvácení je aktivovaná hypotalamo-pituitárně adrenální osa a sympatický nervový systém [Olsson 1992]. Nemalou část intracerebrálních hemoragií provázejí katecholaminové kardiovaskulární krize, způsobující tachykardie, fibrilace, paroxysmální arytmie, tyto jsou zvláště časté u krvácení provalených do mozkových komor

nebo do subarachnoidálního prostoru [Kalvach 2010]. Tyto a další komplikace (především infekční) zvyšují mortalitu v prvním měsíci od příhody.

Až u 50% nemocných krvácení dále pokračuje do 24 hodin po vzniku, ovšem biologické mechanismy, které k této události vedou, nejsou dosud plně pochopeny [Schlunk 2015]. Expanze hematomu je jednou z hlavních příčin morbidity a mortality po ICH a zánět může být s těmito patogenetickými mechanismy asociován [Wang 2011]. Ideální doba pro posouzení případného pokračujícího krvácení není jasná, po více jak 24-48 hodinách je další expanze vzácná, tento časový rámec tedy bývá nejčastěji využíván ke kontrolnímu grafickému zobrazení [Boulouis 2017].

**Obrázek 1 Patofyziologie ICH – dvoufázový model
(mechanické a nemechanické poškození)**



2.3 Terapie intracerebrálního krvácení

Management péče o nemocné s intracerebrálním krvácením zahrnuje jednak obecné postupy jako základní monitoraci, zajištění žilního přístupu, péči o ventilaci a respiraci, péči o vnitřní prostředí, prevenci trombembolie, prevenci infekce, tlumení bolesti a neklidu a další, ale také postupy specifické, jakými je korekce krevního tlaku (optimálně za jeho invazivní monitorace) a urgentní úpravu koagulačních parametrů (pokud je třeba). Zde je nutno podotknout, že současné terapeutické postupy se zaměřují především na primární poškození a prevenci dalšího krvácení, v uplynulých letech se však některé studie soustředily na mechanismy sekundárního poškození (především na mechanismy zánětu) a z nich plynoucí potenciální nové možnosti terapie. Experimenty na zvířecích modelech ukázaly, že kupříkladu fingolimod může redukovat edém, buněčnou apoptózu a atrofii mozku a vykazuje rovněž neuroprotektivní funkci na myším modelu ICH [Lu 2014]. Obdobné výsledky přinesla i klinická studie [Fu 2014]. Podobně může buněčnou apoptózu snižovat i dexametazon [Lee 2015]. Zdá se, že nové terapeutické možnosti slibuje i deferoxamin [Selim 2009], dalšími aktuálně zkoumanými látkami jsou například pioglitazon, albumin, růstový faktor pro granulocytární řadu leukocytů (G-CSF) a další. Zkouší se také kupříkladu efekt léčebné hypotermie. Nicméně předtím, než budou tyto postupy zavedené do klinické praxe v léčbě ICH, je nepochybně potřeba dalších výzkumů.

Velmi diskutovaným tématem je u nemocných s ICH léčba s agresivním snižováním krevního tlaku (TK). Vysoké hodnoty krevního tlaku má totiž při přijetí až 90% nemocných s ICH. Snižování tlaku vede snížením gradientu céva/hematom k snížení či zastavení progresu hematomu a tedy i lepšímu výslednému klinickému stavu [Šrámek 2018]. U nemocných se vstupním systolickým TK mezi 150-220 mm Hg je cílem snížení na 140 mm Hg, což může zlepšit jejich výsledný klinický stav [Hemphill 2015]. Další snižování TK pod tuto hodnotu však již není žádoucí. Důležitá je ovšem rychlost snižování. Dosažení cílových hodnot do jedné hodiny od počátku zahájení antihypertenzní léčby je podle Carcel et al. spojeno s menším růstem objemu hematomu ve srovnání se situací, kdy je uspokojivých hodnot dosaženo později [Carcel 2016]. Avšak vzhledem k tomu, jak heterogenní skupinu nemocných s ICH představují, je otazné, zda jsou vhodné stejné cílové hodnoty TK bez ohledu na lokalizaci krvácení a nastavení mozkové autoregulace z předchorobí [Ševčík 2018]. Randomizovaná studie ATACH II prokázala, že snížení TK na hodnotu 140 mm Hg je

bezpečné, neprokázala však jeho benefit. Snížení TK pod 120 mm Hg v této studii vychází dokonce jako škodlivé [Qureshi 2016].

Další terapeuticky ovlivnitelnou příčinou progresu hematomu je porucha koagulace, jejíž řešení má být rovněž co nejvíce brzké, neboť včasná detekce a urgentní korekce případné koagulační poruchy je v terapii ICH stěžejním postupem. Součástí vstupního laboratorního testování je tedy vyšetření hemokoagulace a krevního obrazu. Koagulační porucha je nejčastěji iatrogeně navozená – až 20% pacientů s ICH je na antikoagulační terapii [Šrámek 2018]. U warfarinizovaných pacientů je podáván koncentrát koagulačních faktorů (Prothromplex, Ocplex) pro jeho rychlý nástup účinku a phytomenadionum - přípravek s obsahem vitamínu K (Kanavit) intravenózně (efekt Kanavitu však nastupuje až v řádech hodin). Alternativou je podání čerstvé mražené plazmy (fresh frozen plasma – FFP), která však účinkuje pomaleji a její podání bývá zatíženo více komplikacemi, především objemovým přetížením oběhu, zejména u starších nemocných. Dosažení INR < 1,3 do čtyř hodin od přijetí nemocného signifikantně snižuje riziko nárůstu objemu hematomu [Kuramatsu 2015]. U nemocných léčených přímými orálními antikoagulanciemi (DOAC) se situace různí – zatímco dabigatran (Pradaxa) má vlastní specifickou protilátku – idarucizumab (Praxbind), která účinek dabigatranu ruší prakticky okamžitě, xabany (rivaroxaban – Xarelto, apixaban – Eliquis) na uvedení takového přípravku na trh zatím ještě čekají – mělo by se jednat o andexanet alfa (AndexXa). Variantou je v případě léčby xabany off-label podání Prothromplexu. Účinek heparinu či nízkomolekulárního heparinu lze antagonizovat protaminem sulfátem.

Stále kontroverzní místo v terapeutickém algoritmu ICH zaujímá neurochirurgický výkon. Možnosti neurochirurgické léčby zahrnují monitoraci intrakraniálního tlaku, zevní komorovou drenáž a evakuaci hematomu. Monitorace intrakraniálního tlaku je poměrně rozšířená, indikace u pacientů s ICH však není jednoznačná, data jsou limitovaná. Lze ji zvážit především u nemocných s Glasgow Coma Scale (GCS) ≤ 8 s rozsáhlým hematodem, hemocefalem nebo hydrocefalem – podle doporučení American Heart Association/American Stroke Association (AHA/ASA 2015 IIb/C). Používá se čidlo intraparenchymové či intraventrikulární, jehož výhodou je současně umožnění drenáže. Mezi hlavní rizika patří krvácení a infekce (riziko je vyšší u intraventrikulárních katétrů). Zevní komorová drenáž je řešením akutního obstrukčního hydrocefalu (AHA/ASA 2015 IIa/B), především u masivních hemocefalů (hlavně ve III. A IV. komoře) a expanzivně se chovajících mozečkových hematomů. Moderní drenáže umožňují měření intrakraniálního tlaku. Mikrochirurgická evakuace hematomu může uvolněním tlaku hematomu na okolní tkáň redukovat sekundární

poškození, výkon je však zatížen komplikacemi včetně pokračujícího krvácení. Prospektivní randomizované studie (STICH I, STICH II) neprokázaly signifikantní benefit operace oproti konzervativnímu postupu [Mendelow 2005, Mendelow 2013]. Urgentní evakuace hematomu (do čtyř hodin od vzniku) nezlepšuje mortalitu a výsledný klinický stav nemocných a může navíc zvyšovat riziko krvácení (AHA/ASA 2015 IIb/A).

Operační výkon je indikován u nemocných s mozečkovým krvácením o objemu větším než 10 ml (průměr větší než 3 cm) s kompresí mozkového kmene či rozvojem obstrukčního hydrocefalu (AHA/ASA 2015 I/B). Randomizované studie však k dispozici nejsou, neboť mozečkové krvácení bývá většinou vylučujícím kritériem. U nemocných se supratentoriálním krvácením o objemu 30-60 ml, < 1 cm od povrchu mozku je operační výkon indikován za podmínky progresu poruchy vědomí či zhoršení ložiskového deficitu (AHA/ASA 2015 IIb/C). Operace naopak není indikovaná u hluboko položených hematomů, hematomů s objemem > 60 ml, u GCS \leq 8, dále pak u supratentoriálních hematomů o objemu < 30 ml, u kmenových hematomů a mozečkových hematomů < 3 cm bez komprese kmene.

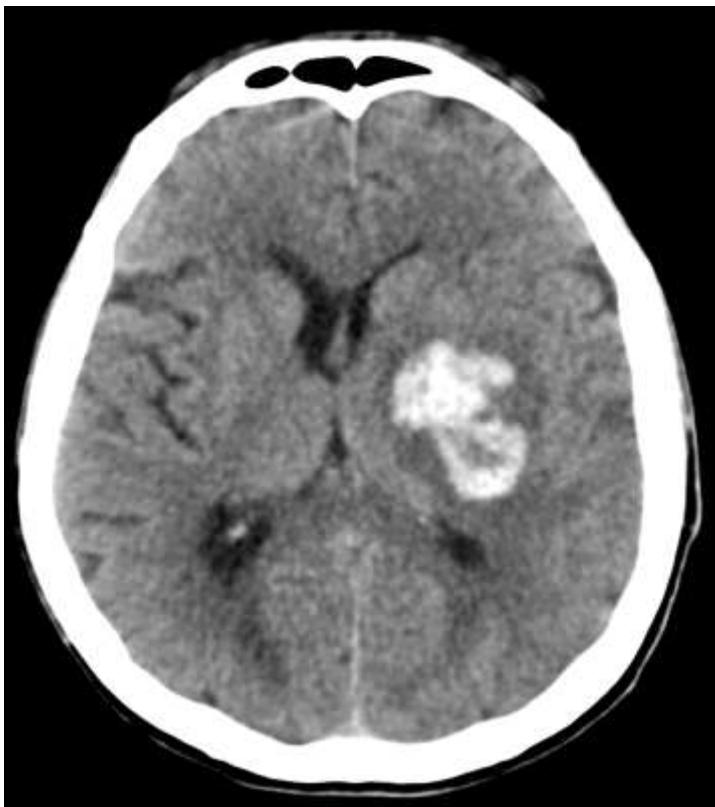
Rozčarování z otevřené evakuace hematomu, které vládne po nepřesvědčivých výsledcích randomizovaných studií, vede k hledání alternativních chirurgických postupů, jakým je na jedné straně dekompresivní kraniektomie (s evakuací hematomu nebo bez ní), na straně druhé miniinvazivní techniky. Efekt otevřené evakuace hematomu může být převážen poškozením intaktní mozkové tkáně při přístupu k hematomu. Přestože dekompresivní kraniektomie zažívá v posledních letech renesanci a objevila se přesvědčivá data o její účinnosti, její použití není dosud paušálně akceptováno [Mraček 2016]. Dekompresivní kraniektomie může být život zachraňujícím výkonem u nemocných v komatu s přetlakem středočárových struktur a na léčbu rezistentní nitrolební hypertenzí (AHA/ASA 2015 IIb/C). Miniinvazivní techniky využívají endoskopii – CT navigovaná endoskopická evakuace hematomu a stereotaxi – stereotaktická evakuace hematomu s použitím rekombinantního tkáňového aktivátoru plazminogenu (rtPA). Jedná se zatím o experimentální postupy, jejichž klinická účinnost je nejistá. Aktuálně publikované výsledky fáze 3 studie MISTIE (Minimally Invasive Stereotactic surgery – rtPA for ICH Evacuation, minimálně invazivní stereotaktická evakuace hematomu s aplikací rtPA) jsou negativní (modifikovaná Rankinova škála 0-3 jeden rok od příhody u 45% nemocných v MISTIE skupině versus 41% standardně léčených), nicméně určitý efekt se zdá být při reziduálním objemu hematomu < 15 ml [Hanley 2019].

Jedná se o heterogenní skupinu nemocných, jejíž jednotlivé podskupiny mohou profitovat z odlišných léčebných metod. Optimální postup by měl být volen především podle klinického stavu nemocného a charakteru hematomu.

Obrázek 2 Krvácení do bazálních ganglií vlevo, CT – vstupní vyšetření



Obrázek 3 Progrese krvácení do bazálních ganglií vlevo, CT – kontrola po 24 hodinách



2.4 Prognóza nemocných s intracerebrálním krvácením

Prognóza nemocných záleží nejen na lokalizaci a velikosti hematomu, ale také na jeho progresi v prvních hodinách po vzniku krvácení. Prognosticky závažnější jsou pochopitelně větší hematomy. Pokud je objem akutní hemoragie větší než 150 ml, nárazníkové mechanismy nemohou kompenzovat rychlý nárůst velké expanze, mozkový perfuzní tlak klesá k nule a nemocní umírají záhy po vzniku krvácení [Mraček 2016]. Avšak i hematomy s objemem kolem 50 cm³ jsou doprovázeny vysokou mortalitou a špatným výsledným klinickým stavem [Xi 2006]. Co se týče postižené oblasti, v mozkovém kmeni se za masivní hemoragii považuje rozsah nad 1,5 cm (průměr), zatímco například v talamu takto označujeme hemoragie větší než 4 cm a v putamen až 5 cm [Kalvach 2010]. U prudkých krvácení (velká ruptura, vysoký tlak) dochází k tříštění mozkové tkáně. Těžší krvácení bývají častěji doprovázena provalením krve do komorového systému. Krvácení tříštivá a velmi rozsáhlá mívají ve většině případů infaustní prognózu. Nelze nicméně pominout ani další faktory, zejména věk a celkový stav nemocného a jeho komorbiditu – především kardiovaskulární onemocnění. V akutní fázi jsou totiž nemocní často ohroženi kardiovaskulárními komplikacemi, jako jsou srdeční arytmie, které dále zatěžují mozkovou cirkulaci. Důležitou roli hraje i stav vědomí při přijetí do nemocnice, kdy u nemocných v kómatu je vyšší riziko úmrtí.

K posouzení prognózy nemocných může sloužit tzv. ICH skóre, hodnotící 5 nezávislých prediktorů 30denní mortality: Glasgow Coma Scale, objem hematomu, intraventrikulární krvácení, infratentoriální krvácení a věk [Hemphill 2001]. Další možností je FUNC skóre, pomocí něž by měli být identifikováni nemocní, kteří dosáhnou stavu funkční nezávislosti [Rost 2008]. Zde se hodnotí rovněž GCS, objem hematomu, lokalizace krvácení, věk a navíc premorbidní kognitivní stav nemocného.

Navzdory možnosti využití těchto skórovacích systémů je stanovení prognózy u nemocných s ICH obtížné. Důležitým prediktorem přežití je poskytnutá péče v prvních 24-48 hodinách od vzniku obtíží. Pokud je tato optimální, zvyšuje se alespoň částečně šance na přežití a lepší výsledný klinický stav.

2.5 Organizace iktové péče v České republice

Péče o nemocné s cévní mozkovou příhodou (iktová péče) se neustále vyvíjí. V České republice prošla významným rozvojem zejména v posledních 20 letech, kdy postupně začaly vznikat specializované jednotky intenzivní péče (JIP) se zaměřením na problematiku akutních iktů – iktové jednotky. Tyto byly v některých zdravotnických zařízeních již od počátku zřizovány jako samostatné, jinde byly součástí interních či mezioborových JIP. Od roku 1998 začala být na vybraných neurologických pracovištích v léčbě akutních ischemických CMP rutinně aplikována intravenózní trombolýza (IVT) - rekombinantní tkáňový aktivátor plazminogenu. Od roku 2005 se v ČR možnosti rekanalizační terapie rozšířily o endovaskulární terapii (mechanická trombektomie) – převážně ve fakultních nemocnicích, vzácně v lokálních nemocničních zařízeních.

V období 2010-2011 byla v ČR zřízena dvouúrovňová síť iktových center. První úroveň vytvořilo celkem 32 iktových center (IC) poskytujících základní akutní iktovou péči (multimodální CT zobrazení, léčba IVT, řešení běžných komplikací, časná rehabilitace, primární a sekundární prevence). Tato centra spolupracují vždy s nejbližším komplexním cerebrovaskulárním centrem (KCC) – druhá úroveň, kterých je celkem 13 a mimo výše uvedeného zajišťují navíc endovaskulární terapii, komplexní neurochirurgickou péči a, jak již bylo řečeno, konzultační činnost pro IC a ostatní spádová neurologická pracoviště [Roubec 2017]. V roce 2015 došlo ke změně názvů pracovišť z iktových center a komplexních cerebrovaskulárních center na centra vysoce specializované péče o pacienty s iktem (CVSPPI) – dříve IC a centra vysoce specializované cerebrovaskulární péče (CVSCP) – dříve KCC.

Vyšetřovací algoritmus se v jednotlivých centrech podstatněji neliší, zahrnuje u každého pacienta s cévní mozkovou příhodou (či podezřením na ni) neurologické vyšetření, základní laboratorní testy, vyšetření mozku výpočetní tomografií (CT) nebo magnetickou rezonancí (MR) a u nemocných potencionálně vhodných pro rekanalizační léčbu (zejména endovaskulární terapii) také CT angiografii nebo MR angiografii.

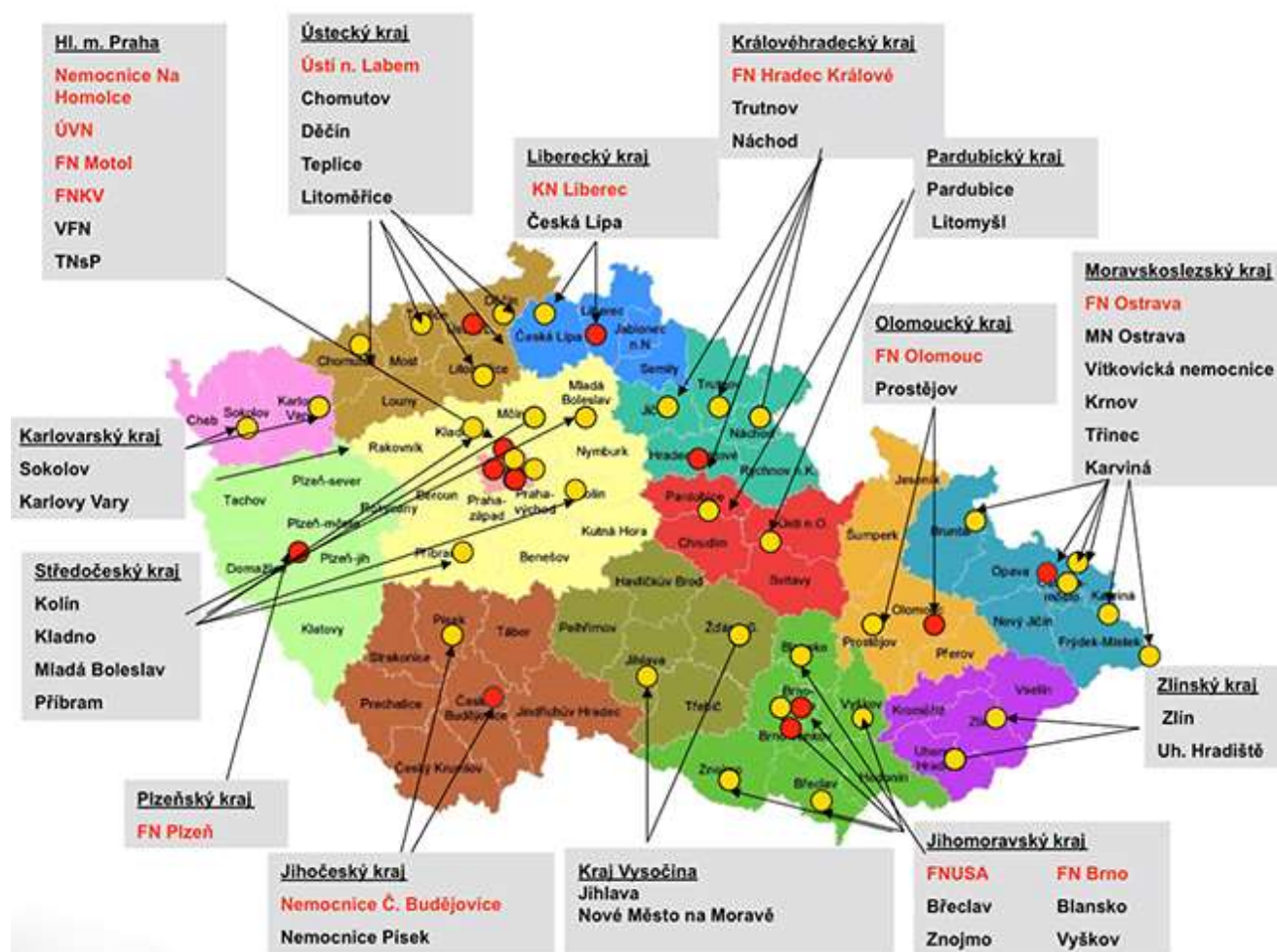
Každé centrum má příslušný spád (obrázek 4). Naše centrum je stran spádovosti unikátní tím, že jako jediné v ČR nemá v celém kraji také CVSPPI, nejbližší jsou v Sokolově a v Karlových Varech. Navíc Karlovarský kraj oproti tomu nemá vlastní CVSCP, při potřebě směřovat pacienta na vyšší pracoviště, ať už k zajištění endovaskulárního či neurochirurgického výkonu nebo třeba k řešení komplikací. Jako takové pro ně slouží právě

naše centrum, čímž jeho spádová oblast ve srovnání s ostatními centry v ČR nabývá nebývalých rozměrů.

U nemocných s ischemickým iktem je krucální čas do zahájení rekanalizační léčby, potažmo do rekanalizace tepenného uzávěru. U nemocných s intracerebrálním krvácením není vzhledem k dosud omezeným možnostem léčby časové hledisko natolik zásadní, tím pádem ani tolik sledované a hodnocené (jako je tomu u ischemických iktů), nicméně i v tomto případě samozřejmě nemocní profitují ze zahájení nemocniční péče bez zbytečných odkladů. Protože i u této diagnózy můžeme aktivním přístupem na začátku léčby prognózu pacienta pozitivně ovlivnit [Šrámek 2018].

Tohle je právě jeden z bodů, kde se otevírají možnosti pro potenciál krevních biomarkerů. Tyto, jak již bylo řečeno, by mohly plnit také roli diagnostickou, především v selekci nemocných s ICH a jejich odlišení od nemocných s ischemickou CMP, potažmo nemocných s příznaky pouze napodobujícími cévní mozkovou příhodu, tzv. „stroke mimics“. Tento proces by byl samozřejmě nejčennější v přednemocniční péči (respektive před provedením zobrazovacího vyšetření, které přítomnost ICH prokáže nebo naopak vyvrátí).

Obrázek 4 Síť specializovaných pracovišť pro léčbu cerebrovaskulárních onemocnění v České republice



Zdroj – webové stránky Cerebrovaskulární sekce České neurologické společnosti ČLS JEP

2.6 Krevní biomarkery, historie výzkumu

Krevní biomarkery jsou objektivně změřitelné a vyhodnotitelné indikátory biologických procesů za fyziologických i patologických podmínek. Mohou reflektovat zánětlivé procesy či se na nich přímo podílet, stejně jako na poškození hematoencefalické bariéry, endoteliální dysfunkci, neuronální a gliální toxicitě. Studium biomarkerů má poměrně hluboké kořeny, různé typy biomarkerů jsou zkoumány generacemi lékařů, vědců i epidemiologů. Jejich přínos pro diagnózu a management infekcí, některých kardiovaskulárních onemocnění, imunologických a onkologických onemocnění je již znám a dostatečně prokázán. Zájem o biomarkery neuronálního poškození stoupá od druhé poloviny 20. století až do současnosti. První práce se zabývaly biomarkery u traumat a mozkových ischemií.

V roce 1965 (tedy 12 let předtím, než se pojem „biomarker“ poprvé objevil v celosvětově známé a uznávané databázi PubMed) publikoval anglický epidemiolog Sir Austin Bradford Hill článek, kde uvedl a přehledně seřadil devět faktorů, které je třeba vzít v úvahu při posuzování vztahu mezi nemocí a faktory životního prostředí [Hill 1965]. Jsou jimi: síla, konzistence, specifická, temporalita, biologický gradient, pravděpodobnost, koherence, experiment a analogie. Třebaže měla tato kritéria napomoci analýze příčinných souvislostí v kontextu environmentálních příčin chorob, je možné je využít i v jiných sférách [Shakir 2002], a jsou tak mimo jiné spojována například s hodnocením preklinické a klinické bezpečnosti biomarkerů [Chetty 2010]. Mayeux uvádí, že biomarkery zvyšují validitu redukcí bias v hodnocení rizikových faktorů neurologických onemocnění, neboť se soustředí nejen na anamnézu přítomnosti rizikového faktoru jako takového, ale na přímé měření úrovně expozice tomuto faktoru [Mayeux 2004]. Tedy například umožní stratifikaci rizika lépe na základě konkrétně zjištěného genotypu asociovaného s rizikem vzniku choroby nežli pouze na základě pozitivní rodinné anamnézy. Možnosti studia biomarkerů samozřejmě vzrůstají s rozvojem molekulární biologie a laboratorních technologií.

Je mnoho způsobů, jak biomarkery klasifikovat. Perera a Weinstein je dělí podle sledu událostí od přítomnosti rizikových faktorů k propuknutí choroby na dvě hlavní skupiny – tzv. biomarkery expozice, které jsou užitečné v predikci rizika vzniku choroby, a tzv. biomarkery choroby, užívané pro screening, diagnostiku a monitorování progresu onemocnění [Perera 2000]. Další dělení uvádí např. Drucker, a sice na biomarkery prognostické, biomarkery prediktivní (identifikují pacienty, kteří by mohli pozitivně odpovídat na léčbu), farmakodynamické (napomáhají určení farmakologického efektu léčby) a takzvané náhradní

nebo také zástupné biomarkery (v anglosaské literatuře označované jako surrogates) – markery, které mají doplnit či v nejlepším případě dokonce nahradit klinické parametry v určení reálného výsledného klinického stavu [Drucker 2013]. Použití náhradních markerů je vhodné spíše u chorob, jejichž patofyziologie je podrobně prozkoumána. Biomarkery by měly optimálně napomoci odhalení neurologické choroby v jejím časném stadiu.

2.7 Krevní biomarkery u intracerebrálního krvácení

Ve snaze zlepšit management péče o nemocné s intracerebrálním krvácením bylo dosud zkoumáno mnoho biomarkerů z různých skupin – mezi nimi markery zánětu (interleukiny, C-reaktivní protein - CRP,...), neuroendokrinní markery (kopeptin,...), růstové faktory (vaskulární endoteliální růstový faktor - VEGF), markery zavzaté do koagulačních procesů (D-dimery) a řada dalších. Záměrem je nalézt krevní biomarkery, které by napomohly správné diagnostice, určení etiologie krvácení, prognostické biomarkery i takzvané náhradní neboli zástupné biomarkery (surrogates) [Senn 2014].

Diagnostické biomarkery by měly být schopné odlišit ICH nejen od ischemického iktu, ale i od epileptického záchvatu, synkopy nebo migrény („stroke mimics“). Toto rozlišení by bylo nápomocné především v přednemocniční fázi, kde by následně sloužilo ke správnému směřování nemocného na příslušné pracoviště a v případě ICH k adekvátnímu managementu krevního tlaku. Mezi nejčastěji zkoumané biomarkery z této skupiny patří gliální fibrilární acidický protein (GFAP) a S100B protein, dále např. apolipoprotein C-III.

Etiologické biomarkery mají, jak název napovídá, sloužit k určení etiologie ICH, tedy zda se jedná o krvácení hypertonické, amyloidové (cerebrální amyloidová angiopatie), krvácení při koagulopatii (především u pacientů léčených antikoagulancii) či krvácení z jiných příčin. Jednoznačně nejčastěji je zde obrácena pozornost k beta-amyloidu.

Prognostické biomarkery mají potenciál předvídat komplikace (včetně progresu hematomu či perifokálního edému), mortalitu či špatný výsledný klinický stav, a tím i napomoci rozhodování o optimální kategorizaci péče o nemocné s ICH, tedy kteří nemocní by těžili z intenzivní léčby, potažmo i operační. Patří sem i markery korelující s objemem hematomu. Mezi nejčastěji zkoumané patří matrix metaloproteinázy (MMP), především MMP-9 [Abilleira 2003, Silva 2005] a S100B protein [Glushakova 2016, Hu 2010], dále mozkový natriuretický peptid - BNP, vaskulární adhezivní protein 1 - VAP-1, hladina glukózy [Kubiak 2013], markery zánětu (především interleukiny) [Senn 2014, Glushakova 2016], 25-hydroxyvitamin D [Bakradze 2016], počet leukocytů [Agnihotri 2011] či CRP [Di Napoli 2011].

Asi nejméně dat je zatím publikováno o náhradních markerech (surrogates), které by měly za úkol v predikci výsledného funkčního stavu nemocného nahradit klinické vyšetření.

V následující kapitole a jejích podkapitolách se budu podrobněji zabývat těmi krevními biomarkery, které jsme na základě dostupné literatury vyhodnotili jako nejslibnější

kandidáty pro náš výzkum, ať už ve snaze jednak prokázat jejich potenciál již doložený jinými studiemi, případně pokusit se objevit vztahy a možnosti zatím nedoložené.

3 Panel krevních biomarkerů vybraných do studie

3.1 Gliální fibrilární acidický protein (GFAP)

Gliální fibrilární acidický protein je coby intracytoplazmatický filamentový protein hlavní část skeletu astrocytů. Jedná se o monomerní molekulu s molekulovou hmotností mezi 40-53 kDa. Hraje důležitou roli nejen ve struktuře, ale i při pohybu astrocytu [Eng 2000]. Je zapojen do mnoha důležitých procesů centrálního nervového systému (CNS), včetně buněčné komunikace a fungování hematoencefalické bariéry (HEB). Je specifickým indikátorem různých patologických procesů CNS, je možno stanovit jej v plazmě i v likvoru. Exprese GFAP se mění během vývoje organismu, během stárnutí a při různých onemocněních včetně cévních mozkových příhod, neurodegenerací (Alzheimerova demence, Parkinsonova nemoc,...), ale i při traumatických poškozeních mozku [Lei 2015]. Za fyziologických podmínek není GFAP aktivně buňkami secernován, a protein tak není běžně detekovatelný v plazmě zdravých jedinců [Missler 1999].

GFAP se ve vztahu k ICH řadí mezi diagnostické biomarkery. Některé studie ukazují, že je rychle vyplavován při intracerebrálním krvácení, zatímco u ischemických cévních mozkových příhod je jeho vyplavení opožděné [Undén 2009]. Toto opoždění reflektuje postupný vznik nekrózy a cytolýzy, a tím postupné uvolňování proteinu z nekrotických buněk do extracelulárního prostoru a průnik přes HEB, v kontrastu s okamžitou buněčnou destrukcí v případech intracerebrální hemoragie [Brunkhorst 2010]. Výsledky autorů Foerch et al. ukazují, že GFAP není detekovatelný v séru u většiny nemocných s ischemickým iktem během prvních šesti hodin od začátku příznaků, na rozdíl od nemocných s ICH [Foerch 2012].

3.2 S100B protein

S100B protein je kalcium-vážíci protein, podjednotka termolabilního kyselého S100 proteinu. Jedná se o cytokin produkovaný především astrocyty, je však součástí i Schwannových buněk, melanocytů, pravděpodobně i adipocytů a buněk neuroendokrinního systému. Jeho biologická úloha je stále diskutována, hlavními funkcemi je nicméně podpora životnosti a morfologické diferenciaci neuronů, prodlužování neuritů, řízení buněčného cyklu, regulace proliferace glie. Předpokládá se i jeho podíl na tvorbě struktur mikrotubulů. Kromě likvoru a séra může být detekován i v moči, pupečnickové krvi, amniové tekutině či slinách. Ve vztahu k mozkové tkáni jsou zvýšené hladiny tohoto proteinu považovány za známku různých patologických stavů – perinatálního mozkového poškození, akutního traumatu mozku, mozkových tumorů, zánětlivých i degenerativních poškození mozku, ale i psychiatrických poruch. Hladiny S100B se však mohou v tělesných tekutinách zvyšovat i za fyziologických podmínek jako je prostá zvýšená fyzická nebo psychická zátěž [Michetti 2012].

Ve vztahu k intracerebrálnímu krvácení hraje S100B roli především prognostickou – James et al. prokázali ve své studii na 28 nemocných jeho schopnost predikce výsledného neurologického stavu v době dimise [James 2009]. Ve studii na 78 nemocných Delgado et al. prokázali vyšší hladiny S100B u nemocných s pozdější progresí neurologického deficitu, v této studii úzce korelují vyšší hladiny i s počátečním objemem hematomu [Delgado 2006]. Jako dobrý prediktor jednotýdenní mortality ukazují S100B výsledky práce Hu et al., tato studie navíc ukazuje jeho možný potenciál diagnostický, kdy byly vyšší hodnoty u nemocných s ICH ve srovnání se skupinou zdravých kontrol [Hu 2010].

3.3 Matrix metaloproteináza 9 (MMP-9)

Matrix metaloproteinázy (MMP) jsou skupinou proteolytických enzymů zavzatých do reorganizace extracelulární matrix, které hrají důležitou roli v řadě fyziologických procesů [Nagase 1999]. Podílejí se na štěpení bílkovin extracelulární matrix, na tkáňové remodelaci, a stávají se tak významným činitelem nejen za fyziologických, ale i patologických podmínek. Za fyziologických podmínek je aktivita matrix metaloproteináz kontrolována na úrovni genové transkripce. Lokální aktivitu ve tkáni pak ovlivňují specifické tkáňové inhibitory matrix metaloproteináz (TIMP) [Gomez 1997]. Exprese MMP je u dospělého člověka nízká, probíhá za specifických situací, jakými je například remodelace a růst kostí, ovulace, menstruace, embryogeneze, morfogeneze, angiogeneze či reparace. Zvýšené hladiny většiny MMP jsou spojeny převážně s ději patologickými, kde dochází k narušení hematoencefalické bariéry.

Z neurologických onemocnění je tomu tak nejen u cévních mozkových příhod, ischemických i hemoragických, ale i u roztroušené sklerózy mozkomíšní, amyotrofické laterální sklerózy, akutní i chronické zánětlivé demyelinizační polyneuropatie, zánětlivé myopatie, či u neurodegenerativních onemocnění a dalších. Nejznámější a jednou z nejčastěji zkoumaných je MMP-9 ze skupiny gelatináz (gelatináza B).

Nejstarší studie zabývající se měřením hladiny MMP-9 u ICH používaly zvířecích modelů, autorem první studie demonstrující zvýšení hladiny MMP-9 u lidských pacientů s ICH byl Abilleira et al. [Abilleira 2003]. Další studie ukazují, že hladina MMP-9 koreluje s velikostí edému a tíží neurologického deficitu [Wu 2010], dle některých zejména v případě hlubokého krvácení. Jiné pak, že vyšší hladina MMP-9 koreluje s růstem hematomu [Silva 2005]. Zdá se také, že by MMP-9 mohla hrát důležitou roli v predikci komplikací po ICH [Wang 2005 Neurocrit Care].

3.4 Interleukiny 6 a 10 (IL-6, IL-10)

Interleukiny jsou heterogenní skupinou cytokinů. Jedná se o látky glykopeptidové povahy, které mají komplexní imunomodulační funkce. Hrají velmi důležitou roli prakticky ve všech zánětlivých a imunitních reakcích. Kromě jejich působení na jiné buňky – regulace jejich růstu, dělení a diferenciací a buněčné adheze, mohou regulovat i sebe navzájem, často účinkují i společně, v kaskádách. Interleukiny iniciují odpověď vazbou na vysoce afinitní receptory umístěné na povrchu buněk. Fungují více parakrinně a autokrinně nežli endokrinně. Jsou produkovány celou škálou buněk – lymfocyty, fibroblasty, mastocyty, endotelem, monocytomakrofágovým systémem, k této produkci často dochází po předchozí aktivaci jiným cytokinem. Spolu s ostatními markery zánětu, jako je CRP, periferní leukocyty, tumor necrosis factor alfa - TNF-alfa, vysoce mobilní protein 1 (high mobility group box 1) - HMGB1, adhezní molekula z imunoglobulinové superrodiny (intercellular adhesion molecule 1) - ICAM-1 a další, hrají interleukiny v procesu ICH variabilní roli [Kim 2006]. Účastní se ruptury cévní stěny, pokračujícího krvácení, nekrózy, v dalším průběhu jsou ale součástí i mechanismů reparace. V důsledku toho mnohé z nich korelují s tíží iktu [Senn 2014].

Interleukin 6

Interleukin 6 má výrazné prozánětlivé účinky (tedy podporuje vznik a další rozvoj zánětu), působí jako regulační (diferenciační) faktor pro různé imunitní buňky, zejména lymfocyty. Také zasahuje do funkcí některých endokrinních orgánů. Ovlivňuje metabolismus svalové a tukové tkáně (podporuje katabolické stavy), ale i kostní tkáně (aktivuje osteoklasty), podílí se na indukci angiogeneze. Uvolnění interleukinu 6 je stimulováno IL-1, IL-4, IL-13 a TNF, rovněž i stresovými hormony (katecholaminy, kortizol). Hladiny IL-6 se zvyšují nejen při infekci, ale i při neinfekční aktivaci imunitního systému např. u traumat, popálenin, operačních výkonů a dalších [Kazda 2012]. Je také klíčovým markerem diagnostiky sepse novorozenců.

Ve vztahu k ICH může být IL-6 prognostickým markerem, schopným predikovat časný růst hematomu, jak dokazují výsledky studie na 183 nemocných, kterou publikoval Silva et al. [Silva 2005]. Jak uvádí Dziedzic et al., hodnoty IL-6 korelují také s objemem hematomu u nemocných s ICH [Dziedzic 2002].

Interleukin 10

Interleukin 10 je důležitým regulačním cytokinem, který má imunosupresivní i imunomodulační účinky. Může inhibovat funkce T-lymfocytů a buněk prezentujících antigen (antigen presenting cells - APC), ale podporuje funkce zprostředkované B-lymfocyty, zvyšuje proliferaci, diferenciaci a přežívání B-buněk a tvorbu protilátek. Interleukin 10 může být produkován různými typy buněk, přičemž hlavní zdroj produkce se v různých tkáních liší a je rozdílný také během akutního a chronického stadia infekce [Couper 2008]. Vzhledem k tomu, že interleukin 10 funguje také protizánětlivě, bylo v několika málo studiích zkoumáno jeho možné neuroprotektivní působení. Výsledky jsou však značně konfliktní. Zatím se zdá, že hladiny IL-10 jsou závislé na typu vyvolávající patologie [Garcia 2017].

U nemocných s ICH má IL-10 stejně jako IL-6 potenciál být prognostickým markerem. V prospektivní studii autorů Wang et al. čítající 59 nemocných predikuje pokračující krvácení (rebleeding) se 75% senzitivitou a 72% specifitou [Wang 2011]. Podle některých autorů zvýšené hladiny IL-10 rovněž predikují špatný výsledný klinický stav [Oto 2008].

3.5 Vitamin D (25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D)

Vitamin D je pre-prohormon vyskytující se jednak jako vitamin D2 (ergokalciferol, calcifediol), jednak jako vitamin D3 (cholecalciferol). Vitamin D2 vzniká fotosyntézou rostlinných sterolů a je tedy lidským organismem přijímán z rostlinných zdrojů. Tělu vlastní je vitamin D3, který se tvoří v kůži ultrafialovým zářením z prekursoru 7-dehydrocholesterolu. Tvorba v kůži je pro lidský organismus hlavním zdrojem vitaminu D.

V játrech se vitamin D3 hydroxyluje na **25-hydroxyvitamin D** – kalcidiol, jehož biologický poločas se pohybuje mezi několika dny až týdny. V ledvinách pak dochází k další hydroxylaci kalcidiolu na metabolicky aktivnější formu **1,25-dihydroxyvitamin D** – kalcitriol (v ledvinách se vytvářejí i další metabolity s hormonální aktivitou) [Spustová 2002]. Jako indikátor dostatku (případně nedostatku) vitaminu D v organismu se v klinické praxi používá hladina kalcidiolu, neboť lépe vystihuje potřeby organismu a jeho hladiny jsou méně kolísající. Mezi základní účinky vitaminu D patří regulace kalcium-fosfátového metabolismu. Slouží jako signální molekula, ovlivňuje genovou expresi, buněčný růst, membránové transporty, imunitní funkce a také oxidační stres, který hraje roli v akutním buněčném poškození při cévní mozkové příhodě.

Vztah nízkých hladin vitaminu D k riziku vzniku ischemické cévní mozkové příhody byl opakovaně prokázán [Zhou 2018, Judd 2016], stejně tak i vztah nízkých hladin vitaminu D a špatného výsledného klinického stavu nemocných s ischemickou cévní mozkovou příhodou [Wei 2017, Turetsky 2015]. Dosud se však jen velmi málo studií věnovalo možnému vlivu hladiny vitaminu D na rozsah postižení a výsledný klinický stav u nemocných s intracerebrálním krvácením [Bakradze 2016].

3.6 Cholesterol

Cholesterol je látka steroidní povahy s polární a nepolární částí. Polární část tvoří hydroxylová skupina, nepolární část tvoří steroidní jádro a uhlovodíkový řetězec. Endogenní syntéza cholesterolu se odehrává především v játrech (až 50%), dále v kůži, střevě a nadledvinách a je do jisté míry individuální (stejně jako jeho denní potřeba). Menší část je přijímána potravou. Význam cholesterolu je především pro syntézu steroidních hormonů, syntézu vitaminu D, je prekurzorem pro tvorbu žlučových kyselin, v neposlední řadě i důležitou stavební složkou buněčných membrán. Účastní se intracelulárního transportu, buněčné signalizace a vedení nervového vzruchu. Po vazbě na apolipoproteiny vytváří lipoproteiny, ty se podle hustoty dělí na tři hlavní skupiny: 1) vysokodenzitní lipoprotein (high density lipoprotein -HDL), 2) nízkodenzitní lipoprotein (low density lipoprotein - LDL), velmi nízkodenzitní lipoprotein (very low density lipoprotein - VLDL).

Hypercholesterolemie je již dlouho známá jako významný rizikový faktor pro vznik ischemické cévní mozkové příhody [Goldstein 2011], v tomto případě jde o zvýšení celkového cholesterolu a nízkodenzitního lipoproteinu. Novější studie prokazují naopak nízké hladiny cholesterolu jako rizikový faktor pro vznik intracerebrálního krvácení [Valappil 2012, Wang 2013, Goldstein 2009]. Studie autorů Rodriguez-Luna et al. ukazuje, že nízkodenzitní lipoprotein může predikovat růst hematomu. Jedním z možných vysvětlení je to, že sérový cholesterol je potřebný pro integritu cévní stěny a při nízkých hladinách je menší agregace destiček, což přispívá k růstu hematomu. Podle této studie může nízkodenzitní lipoprotein zároveň sloužit v procesu prognózování u nemocných s intracerebrálním krvácením – studie demonstruje nezávislou korelaci mezi nízkými hladinami LDL a časným zhoršením neurologického deficitu a také tříměsíční mortalitou [Rodriguez-Luna 2011].

3.7 Počet leukocytů

Leukocyty jsou heterogenní skupinou buněk, které vznikají z pluripotentních hematopoetických kmenových buněk kostní dřeně. Jedná se o bezbarvé kulovité buňky, které vždy obsahují jádro. Hrají velmi důležitou roli v imunitních a metabolických procesech organismu, zejména v ochraně před infekcí. Jednotlivé podskupiny leukocytů se navzájem liší vývojem, tvarem jádra, velikostí i vlastním způsobem fungování. Z morfolického hlediska se dělí na granulocyty – neutrofilní, eozinofilní a bazofilní, a agranulocyty – monocyty, lymfocyty. Z hlediska imunologického jsou děleny na imunocyty – lymfocyty, plazmatické buňky, a fagocyty – granulocyty, monocyty, histiocyty.

Ve spojitosti s ICH byly dosud zkoumány především coby markery prognostické. Agnihotri et al. ve své studii na 423 nemocných prokázali, že výrazný vzestup v počtu leukocytů v periferní krvi nemocných s ICH v prvních 72 hodinách po vzniku příhody predikuje horší krátkodobý i dlouhodobý výsledný klinický stav [Agnihotri 2011]. Wang et al. na základě výsledků své studie uvádí souvislost počtu leukocytů v periferní krvi a pokračujícího krvácení [Wang 2011].

3.8 Glykemie

Glykemie (koncentrace glukózy v krvi) je za fyziologických podmínek udržována v úzkém rozmezí. Hodnoty tohoto rozmezí se mírně liší v závislosti na konkrétní laboratoři. Tělo těsně reguluje hladiny glukózy v krvi jako součást metabolické homeostázy [Wasserman 2009]. Glukóza je jednoduchý cukr, v buňkách kosterního svalstva a jaterních buňkách je uložena ve formě glykogenu. Existují dva typy vzájemně antagonisticky působících hormonů, které hladinu krevní glukózy ovlivňují: - anabolický hormon (inzulín), který glykémii snižuje, a katabolické hormony (jako je glukagon, kortizol, katecholaminy), které glykémii zvyšují.

Zatím nemnohé studie ukazují potenciál glykemie coby prognostického markeru u nemocných s intracerebrálním krvácením. Multicentrická studie na celkovém počtu 1387 nemocných s ICH autorů Lee et al. prokázala vyšší hodnoty glykemie při přijetí nemocného jako nezávislý rizikový faktor pro časnou mortalitu. Po vyloučení pacientů s diabetem byla v této studii vyšší glykemie při přijetí asociována s dlouhodobou (nad 30 dní) mortalitou [Lee 2010]. Dosud pouze jediná studie se zabývala možným vztahem glykemie a objemu hematomu u nemocných s ICH, a sice studie Kubiak et al., která prokázala, že vyšší hladiny krevní glukózy při přijetí nemocného korelují s větším objemem hematomu. Předpokládaným mechanismem je přechodná dysfunkce endotelu [Kubiak 2013].

3.9 C-reaktivní protein (CRP)

C-reaktivní protein je protein akutní fáze zánětu produkovaný játry jako odpověď na širokou škálu akutních i chronických stavů (jakými jsou infekce, revmatická a jiná zánětlivá onemocnění, malignity...) coby reakce na tkáňové poškození a nekrózu. Tyto stavy způsobují uvolňování interleukinu 6 a dalších cytokinů, které vyvolávají syntézu CRP (a fibrinogenu). Jedná se o prstenčitý pentamerický protein, člen rodiny pentraxinů. Tyto proteiny cirkulují v plazmě a slouží jako solubilní receptory (pathogen-recognition-receptors - PRR), které rozpoznávají specifické molekulární struktury invadujících patogenů a poškozených buněk (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs). Rolí CRP je vázat lyzofosfatidylcholin exprimovaný na povrchu mrtvých nebo umírajících buněk (a některých druhů bakterií) za účelem aktivace komplementového systému pomocí C1q [Thompson 1999].

Syntéza CRP může být zvýšena až tisíckrát, maximální hodnota je částečně ovlivněna druhem vyvolávajícího stimulu. Nejvyšších hodnot obvykle dosahuje u gramnegativních sepsí. Signifikantní vzestup CRP je zaznamenán zhruba po 10-12 hodinách, které jsou nutné pro jeho syntézu, v časných stádiích sepse je tedy jeho senzitivita nízká. I tak je však v krvi detekován dříve než některé jiné markery zánětu.

Je již prokázáno, že zvýšená hladina CRP může nejen korelovat s přítomností zánětu jako takového, ale je i nezávislým prediktorem zvýšeného rizika ischemické choroby srdeční, ischemické choroby dolních končetin, infarktu myokardu, náhlé srdeční smrti, arteriální hypertenze a cévní mozkové příhody. U pacientů se zvýšenými hodnotami CRP dochází k rychlejší progresi aterosklerózy v důsledku zvýšené proliferace monocytů, snížené aktivity tkáňového aktivátoru plasminogenu v endoteliálních buňkách a zvýšené aktivace hladké svaloviny cév. CRP váže modifikované i nemodifikované formy lipoproteinů o nízké hustotě (LDL). Takto vzniklé komplexy jsou poté fagocytovány makrofágy, které se účastní chronického zánětu v dysfunkčním endotelu.

V hodnotách CRP se vyskytují rasové i etnické rozdíly, jak dokazuje studie např. Reiner et al. či Ellis et al. [Reiner 2012, Ellis 2014]. Genomové studie prokázaly vztah hodnot CRP k mutacím v genech pro syntézu receptoru pro IL-6, receptoru pro IL-1 a v molekulách účastnících se metabolismu cukrů a tuků. Zánětlivá reakce je navíc ovlivněna polymorfizmy v genech kódujících fibrinogen, IL-1 β a inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI). Zánětlivá reakce je tedy individuální, což znamená, že stejná hodnota CRP u různých jedinců může odpovídat různě intenzitě zánětlivého procesu.

CRP patří mezi prognostické markery u ICH - Di Napoli et al. prokázali ve své studii na 210 nemocných vztah mezi vyššími hodnotami CRP a vyšší 30denní mortalitou a také potenciál CRP zlepšit přesnost Hemphillova ICH skóre až o 8%, pokud jsou do tohoto modelu hodnoty CRP zavzaty [Di Napoli 2011].

4 CÍL PRÁCE

Cílem naší studie bylo zhodnotit vztah vybraných krevních biomarkerů a zkoumaných klinických a radiodiagnostických parametrů u nemocných se spontánním intracerebrálním krvácením, především pak pokusit se nalézt prognostický krevní biomarker, který by mimo jiné napomohl v rozhodování o optimální kategorizaci léčby těchto nemocných.

5 METODIKA

5.1 Vstupní a vylučující kritéria

Do prospektivní observační studie bylo zařazeno 70 nemocných se spontánním intracerebrálním krvácením léčených v Komplexním cerebrovaskulárním centru Fakultní nemocnice Plzeň v období leden 2016 - červenec 2017.

Vstupním kritériem pro zařazení do studie bylo spontánní intracerebrální krvácení, přijetí nemocného do zdravotnického zařízení do šesti hodin od vzniku příznaků, věk 18-90 let.

Vylučujícími kritérii byly: iktus (ischemický či hemoragický) v posledních třech měsících, kranio cerebrální trauma v posledních třech měsících, infekce CNS v posledních třech měsících, velký chirurgický výkon v posledních třech měsících, koagulopatie včetně iatrogenní, aktivní onkologické onemocnění, systémové autoimunitní onemocnění, prokázaný zdroj krvácení (cévní malformace, aneuryzma), čistě intraventrikulární krvácení.

5.2 Stanovované krevní biomarkery

Hodnocen byl panel krevních biomarkerů sestavený na základě dosud publikovaných poznatků z více studií (gliální fibrilární acidický protein - GFAP, S100B protein, matrix metaloproteináza 9 – MMP-9, interleukin 6 - IL-6, interleukin 10 - IL-10, 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, celkový cholesterol, počet leukocytů, glykemie, C-reaktivní protein - CRP). Výběr probíhal tak, aby byly zastoupeny markery z různých skupin a různé povahy (zánětlivé markery, enzymy, vitaminy,...).

Odběr vzorků proběhl do dvou hodin od přijetí nemocných do zdravotnického zařízení.

Tabulka 1 Přehled hodnocených krevních biomarkerů a metod stanovení

| Biomarker (jednotka) | Metoda | Materiál |
|--|---|---------------------------|
| S-100B (µg/L) | Elektrochemiluminiscence | sérum |
| Interleukin 6 (IL-6) (pg/mL) | Chemiluminiscence | sérum |
| 25-hydroxyvitamin D (nmol/L) | Chemiluminiscence | sérum |
| 1,25-dihydroxyvitamin D (pg/mL) | Imunoradiometrická analýza | sérum |
| Interleukin 10 (IL-10) (pg/mL) | Enzymová imunoanalýza (ELISA se spektrofotometrickou detekcí) | sérum |
| Matrix metaloproteináza 9 (MMP-9) (ug/mL) | Enzymová imunoanalýza (ELISA se spektrofotometrickou detekcí) | sérum |
| Cholesterol celkový (mmol/l) | Fotometrická enzymová metoda CHOD-PAD | sérum |
| Glykemie (mmol/l) | Hexokinázová enzymatická metoda | sérum |
| C-reaktivní protein (CRP) (mg/l) | Částicové turbidimetrické imunologické stanovení | sérum |
| Počet leukocytů ($10^9/l$) | Automatický analyzátor krevního obrazu | plná nesrážlivá krev EDTA |
| Gliální fibrilární acidický protein (GFAP) (ng/mL) | Enzymová imunoanalýza (ELISA se spektrofotometrickou detekcí) | plazma |

5.3 Sledované klinické a radiodiagnostické parametry

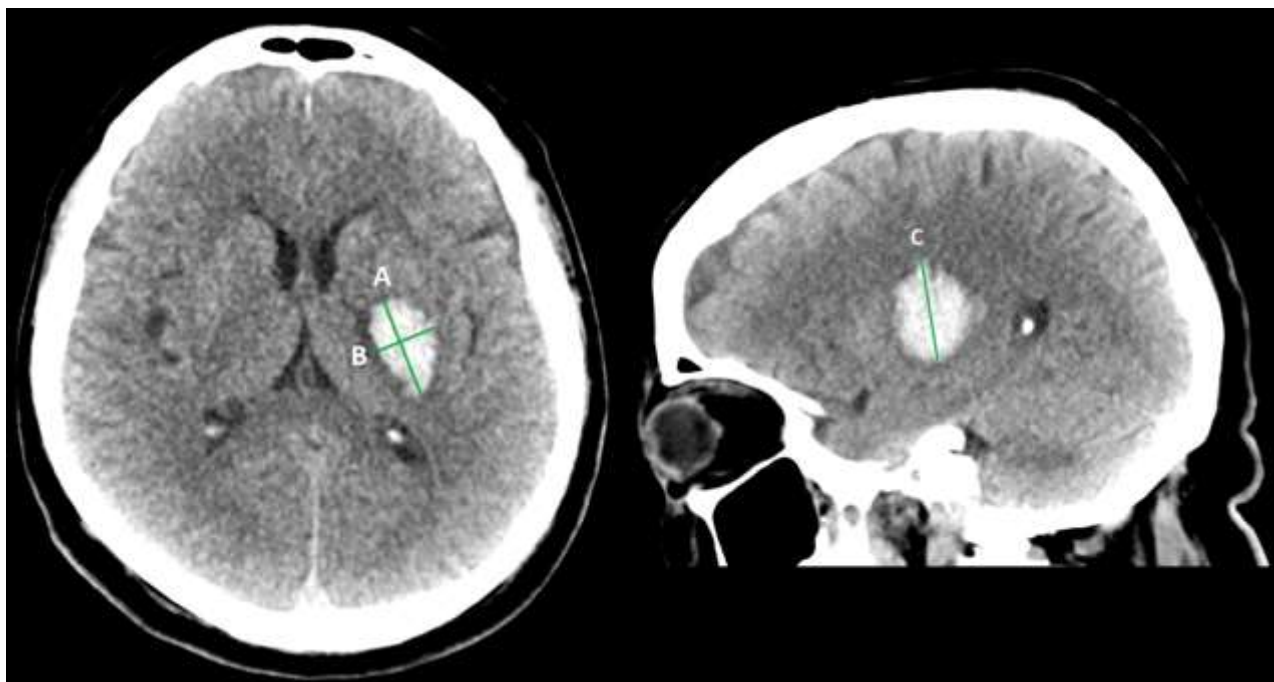
Byly zvoleny klinické a radiodiagnostické parametry, jejichž hodnocení probíhalo pomocí standardně používaných skórovacích systémů:

- tíže vstupního neurologického deficitu hodnocená dle National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS)
- progresse tíže neurologického deficitu po 24 hodinách od přijetí (NIHSS)
- výsledný klinický stav po třech měsících hodnocený dle modifikované Rankinovy škály (mRS) - follow-up byl zajištěn ambulantní kontrolou v cévní poradně Neurologické kliniky, či v případě těžkého deficitu telefonickou informací od příbuzných či ošetřovatelů nemocného
- objem hematomu pomocí výpočetní tomografie (vstupní vyšetření zahrnovalo krom nekontrastního i CT angiografii k případnému ozřejmění zdroje krvácení), pro výpočet objemu hematomu v ml použit standardní vzorec $V=A \times B \times C/2$ [Kothari 1996, Newman 2007], kde hodnoty A, B, C jsou největší rozměry hematomu měřené v centimetrech ve třech na sebe kolmých rovinách (vzhledem k tvarové nepravidelnosti jednotlivých hematomů byl použit manuální postup měření)
- progresse hematomu za 24 hodin od přijetí (nekontrastní CT vyšetření).

Tabulka 2 Sledované klinické a radiodiagnostické parametry

| Klinické parametry |
|--|
| Tíže vstupního neurologického deficitu (NIHSS) |
| Progrese tíže neurologického deficitu po 24 hodinách (NIHSS) |
| Výsledný klinický stav po třech měsících (mRS) |
| Radiodiagnostické parametry |
| Objem hematomu (CT, ABC/2 skóre) |
| Progrese hematomu za 24 hodin (CT) |

Obrázek 5 Výpočet objemu hematomu – vzorec $A \times B \times C/2$



A, B – viz obrázek (cm)

C – viz obrázek (možno změřit počet řezů v axiální rovině, na kterých je hematoma zachycen x šířka řezu)

5.4 Imunoanalytické metody

Vzorky periferní žilní krve byly nabírány odběrovým systémem VACUETTE[®] (Greiner Bio-One, Rakousko) do dvou zkumavek, jedné s aktivátorem hemokoagulace pro srážlivou krev (sérum) a druhé s antikoagulačním činidlem EDTA pro nesrážlivou krev (plazma). Sérum bylo po vysrážení odděleno centrifugací 10 min při 1,700 x g, krevní plazma byla separovaná centrifugací 10 min při 1,300 x g. Alikvoty séra a plazmy byly zamrazeny na -80°C až do analýzy.

Měření hladin všech markerů stanovených s využitím imunoanalytických metod proběhlo v souladu s protokolem výrobce reakčního kitu. Imunoanalytické metody (neboli imunochemické metody s indikátorem) využívají princip imunochemické reakce, tedy specifické reakce mezi protilátkou a antigenem. Jeden z reaktantů je značený indikátorem, který lze detekovat s vysokou citlivostí, a právě na základě povahy tohoto indikátoru rozlišujeme různé metody, jako je radioimunoanalýza, enzymová imunoanalýza, chemiluminiscence, elektrochemiluminiscence a další. Stanovení se provádějí na automatických přístrojích s použitím komerčně dodávaných reakčních kitů.

5.5 Biochemické (bioanalytické) metody

Vzorky periferní žilní krve byly nabírány odběrovým systémem VACUETTE[®] (Greiner Bio-One, Rakousko). Celkový cholesterol byl stanoven fotometrickou enzymovou metodou CHOD-PAD. Glykemie byla stanovena hexokinázovou enzymatickou metodou. K měření hladin C-reaktivního proteinu bylo použito částicové turbidimetrické imunologické stanovení. Ke stanovení počtu leukocytů byl použit automatický analyzátor krevního obrazu.

5.6 Statistická analýza

Data byla statisticky zpracována. Deskriptivní statistika byla použita pro charakteristiku všech nemocných a následujících podskupin: nemocní s příznivým a nepříznivým klinickým stavem tři měsíce od prodělané ICH (definováno jako mRS 0-2 a 3-6), pacienti s progresí a bez progresu hematomu na kontrolním CT po 24 hodinách od přijetí, mortalita po třech měsících od dimise. K zhodnocení vztahu mezi hodnotami laboratorních parametrů a objemem hematomu, stejně jako NIHSS skóre, byla vzhledem k rozložení dat zvolena Spearmanova korelace. Logistická regrese byla použita pro adjustaci statistické významnosti asociace mezi demografickými charakteristikami, NIHSS skóre, objemem hematomu, laboratorními parametry a výsledným klinickým stavem včetně mortality, stejně jako progresí velikosti hematomu na kontrolním CT. Proměnné, které dosáhly hladiny významnosti $p < 0,1$ v jednorozměrné analýze, byly následně použity pro testování ve vícerozměrném logistickém modelu. Hladina statistické významnosti v konečném modelu byla určena jako $p < 0,05$. Statistické analýzy byly provedeny v programu IBM SPSS Statistics 25.0 (IMB, USA).

6 VÝSLEDKY

6.1 Demografická charakteristika souboru

Ve sledovaném období (leden 2016 – červenec 2017) bylo do studie prospektivně zařazeno celkem 70 nemocných (23 žen, 47 mužů), průměrný věk nemocných byl 68,8 let. Základní charakteristiku souboru a jednotlivých podskupin pacientů ukazuje tabulka 3.

Tabulka 3 Základní charakteristika souboru

| | Celý soubor | Bez progrese na CT | Progrese na CT | mRS 0-2 za 3 měsíce | mRS 3-6 za 3 měsíce | Přeživší za 3 měsíce | Zemřelí za 3 měsíce |
|--|--------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Počet pacientů, No. (%) | 70 | 49 (70%) | 21 (30%) | 23 (32,9%) | 47 (67,1%) | 50 | 20 |
| Muži, No. (%) | 47 (67,1%) | 33 (67,3%) | 14 (66,7%) | 18 (78,3%) | 29 (61,7%) | 34 (68%) | 13 (65%) |
| Věk, průměr (SD), roky | 68,79 (12,3) | 68,71 (13) | 68,95 (10,7) | 62,13 (13,3) | 72,04 (10,4) | 67 (12,7) | 68,6 (9,8) |
| NIHSS vstupní, medián (IQR) | 10 (11) | 8 (9) | 17 (21) | 7 (5) | 15 (12) | 8 (8) | 17,5 (20) |
| NIHSS po 24 hodinách, medián (IQR) | 9,5 (14) | 7 (10) | 23 (19) | 5 (5) | 17 (23) | 7 (10) | 23,75 (16) |
| Objem hematomu, medián (IQR) (ml) | 16,4 (38,5) | 13,8 (24,5) | 36,3 (83,7) | 8,9 (16) | 28,1 (56,4) | 12,65 (24,2) | 40,65 (100,5) |
| Cholesterol, medián (IQR) (mmol/l) | 4,49 (1,6) | 4,56 (1,49) | 4,43 (1,57) | 4,71 (1,5) | 4,43 (1,2) | 4,62 (1,6) | 4,04 (1,2) |
| Glykemie, medián (IQR) (mmol/l) | 7,7 (3,7) | 7,8 (3,8) | 7,4 (4,1) | 7,8 (3,5) | 7,7 (5,5) | 7,05 (3,6) | 9,1 (4,2) |
| Leukocyty, medián (IQR), (10⁹/l) | 9,7 (5,1) | 10 (3,9) | 7,9 (6,1) | 9,7 (2,4) | 9,7 (5,8) | 9,7 (3,4) | 11,1 (6,6) |
| CRP medián (IQR) (mg/l) | 2 (8) | 2 (8) | 2 (8) | 3 (9) | 2 (6) | 2 (8) | 1 (3) |

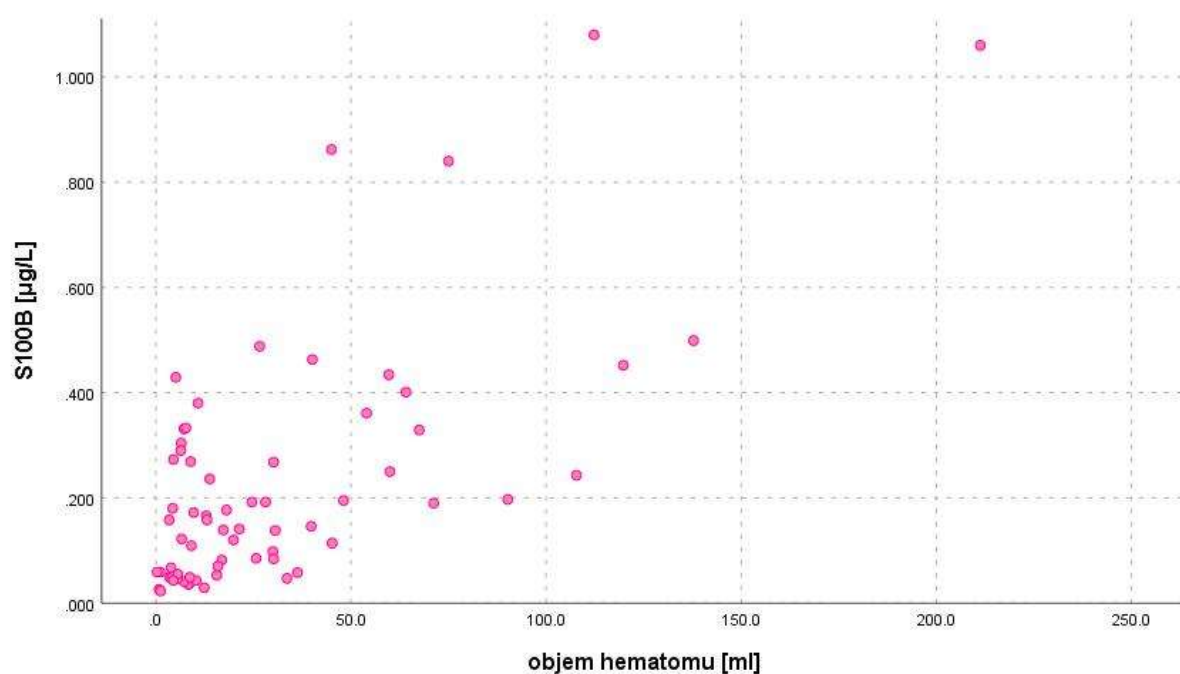
| | | | | | | | |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| IL-6, medián (IQR) (pg/ml) | 12,17 (16) | 12,42 (14,6) | 11,92 (23,7) | 12,42 (10,4) | 11,92 (21,8) | 10,99 (14,3) | 15,71 (26,8) |
| IL-10, medián (IQR) (pg/ml) | 24,71 (48,3) | 16,18 (48) | 50 (48,4) | 6 (48,4) | 50,00 (47,5) | 11,39 (48,4) | 50 (46,3) |
| MMP-9, medián (IQR) (ug/ml) | 1171,5 (696) | 1218 (831) | 969 (1049) | 1165 (935) | 1191 (642) | 1171,5 (591) | 1181,5 (1167) |
| GFAP, medián (IQR) (ng/ml) | 1,65 (4,2) | 1,89 (4,3) | 1,62 (3,7) | 2,7 (4) | 1,62 (3,7) | 1,76 (3,63) | 1,64 (4,27) |
| S100B, medián (IQR) (µg/l) | 0,17 (0,3) | 0,14 (0,2) | 0,25(0,3) | 0,07 (0,2) | 0,19 (0,3) | 0,14 (0,22) | 0,26 (0,59) |
| 25(OH)vitD, medián (IQR) (nmol/l) | 44,15 (34,3) | 43,1 (34) | 45,2 (34,7) | 60,1 (40,2) | 42,2 (31,9) | 47 (37,4) | 42,65 (31,3) |
| 1,25(OH)2vitD, průměr (SD) (pg/ml) | 47,6 (17,7) | 48,31 (19) | 45,95 (14,7) | 55,72 (18,4) | 43,63 (16,1) | 48,55 (17,4) | 45,22 (18,7) |
| Progrese hematomu, No. (%) | 21(30%) | 0(0%) | 21(100%) | 2(8,7%) | 19(40,4%) | 7(14%) | 14(70%) |

SD – standard deviation (směrodatná odchylka), IQR - interquartile range (mezikvartilové rozpětí)

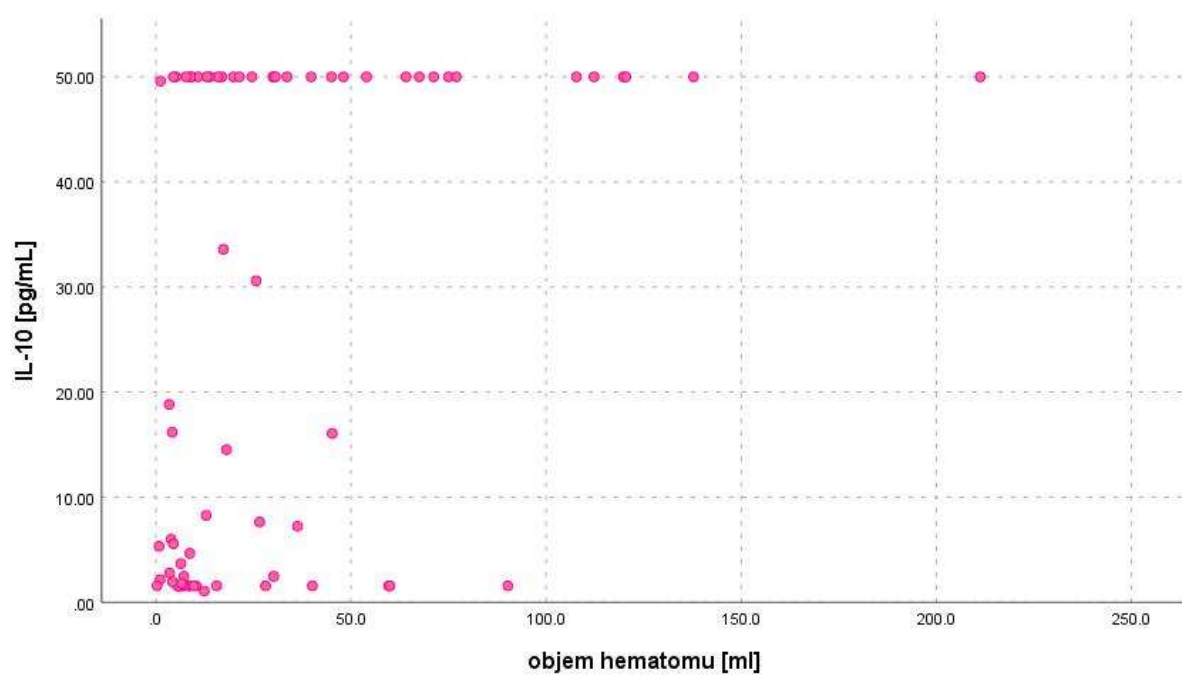
6.2 Objem hematomu

Ve vztahu k objemu hematomu byla nalezena statisticky významná pozitivní korelace hodnoty S100B, hodnoty IL-10 a IL-6 a hodnoty glykemie (S100B: Spearmanův korelační koeficient (ρ) $\rho = 0,54$, $p < 0,001$, IL-10: $\rho = 0,43$, $p < 0,001$, IL-6: $\rho = 0,26$, $p = 0,027$, glykemie: $\rho = 0,24$, $p = 0,045$).

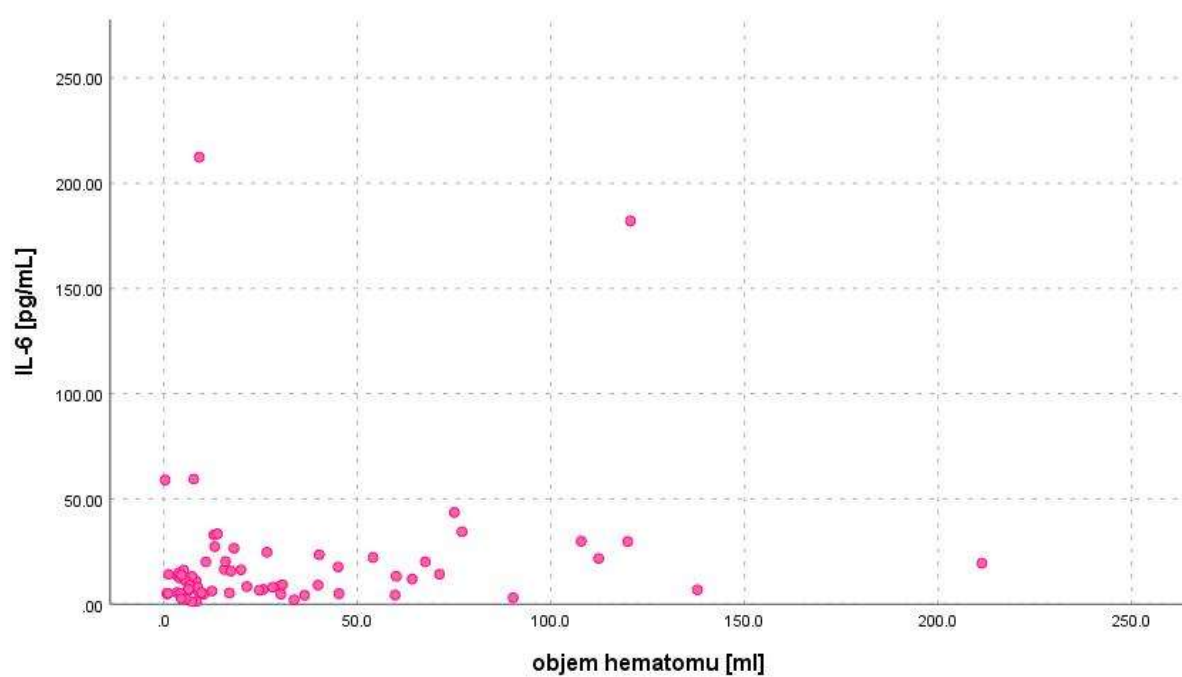
Graf 1 Vztah mezi hladinami S100B a objemem hematomu



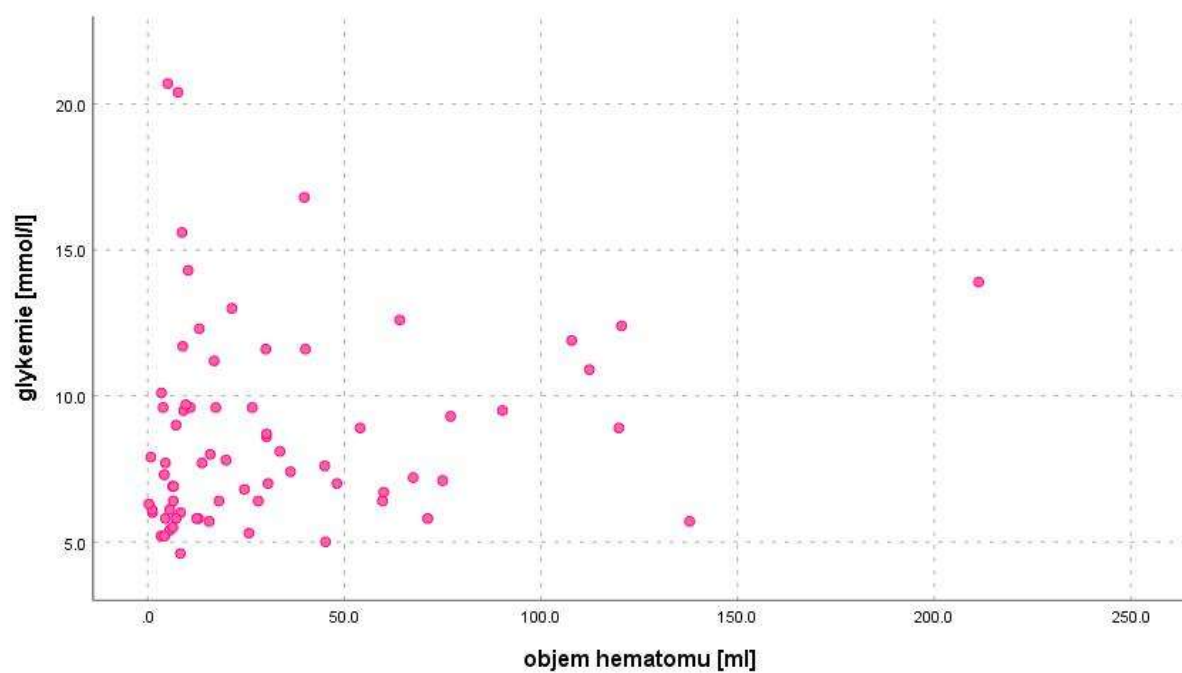
Graf 2 Vzťah medzi hladinami IL-10 a objemem hematomu



Graf 3 Vzťah medzi hladinami IL-6 a objemem hematomu



Graf 4 Vzťah medzi hodnotami glykémie a objemom hematomu



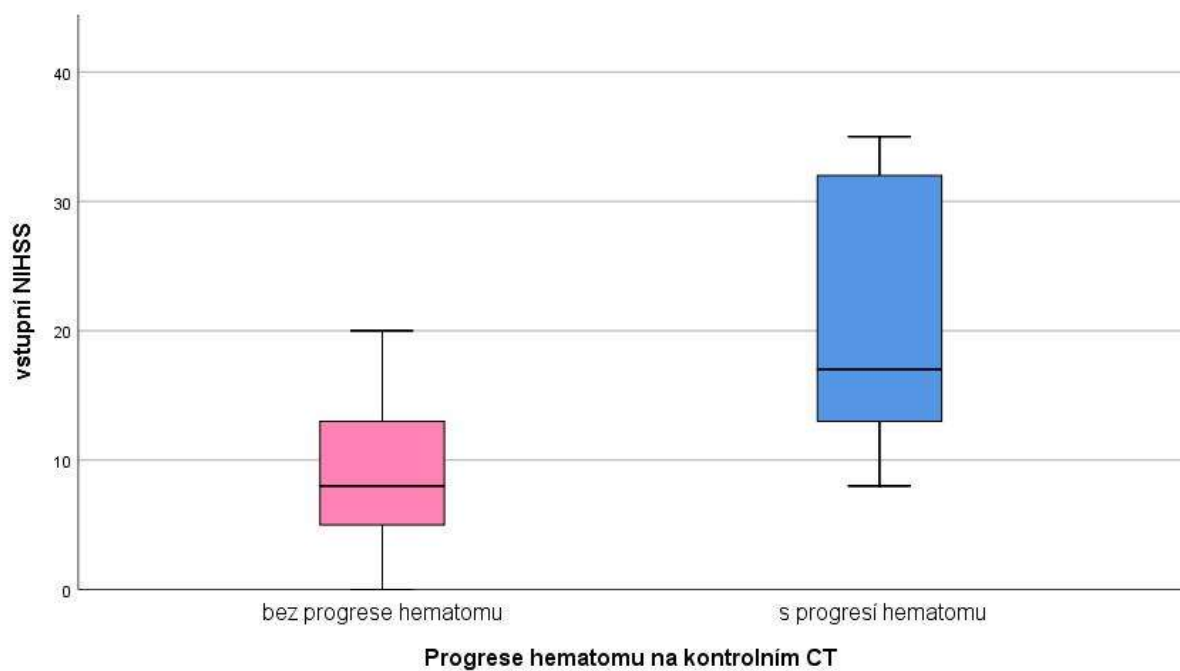
6.3 Progrese hematomu

Vliv jednotlivých studovaných ukazatelů na progresi hematomu hodnocený pomocí jednorozměrné logistické regresní analýzy ukazuje tabulka 4. Vícerozměrná analýza poté ukázala jako statisticky významně asociované s progresí hematomu následující ukazatele: vstupní NIHSS (OR 1,13; 95% CI 1,04 – 1,23; $p = 0,006$), MMP-9 ug/ml (OR 0,10 95% CI 0,02-0,54; $p=0,007$) a S100B nad 0,15 $\mu\text{g/l}$ (OR 6,77; 95% CI 1,55 – 29,61; $p=0,011$), kdy vyšší hodnoty NIHSS a S100B a nižší hodnoty MMP-9 predikují progresi hematomu.

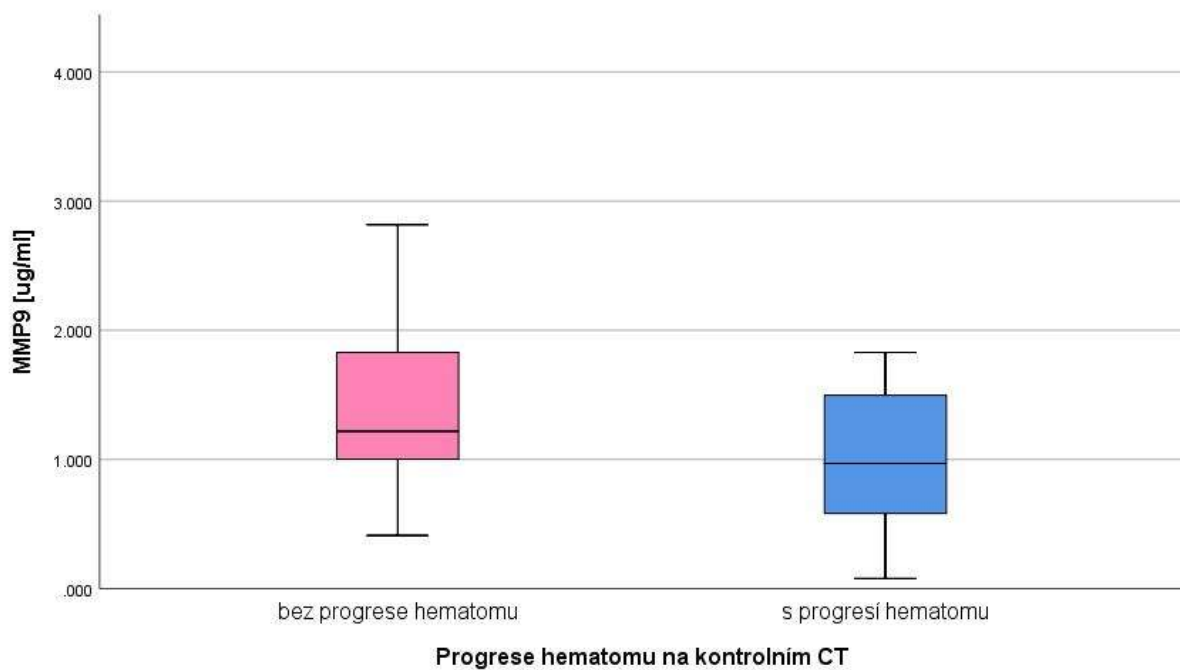
Tabulka 4 Jednorozměrná logistická regresní analýza vlivu sledovaných ukazatelů na progresi hematomu

| | Hladina významnosti (p); * < 0,05 | Poměr šancí, odds ratio, OR | 95% konfidenční interval | |
|--|--------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------|
| | | | dolní hranice | horní hranice |
| Muž | 0,956 | 0,97 | 0,33 | 2,87 |
| Věk | 0,940 | 1,00 | 0,96 | 1,05 |
| NIHSS vstupní | 0,001* | 1,11 | 1,05 | 1,18 |
| Objem hematomu (ml) | 0,008* | 1,02 | 1,01 | 1,04 |
| Cholesterol (mmol/l) | 0,337 | 0,80 | 0,50 | 1,27 |
| Glykemie mmol/l) | 0,950 | 1,00 | 0,87 | 1,17 |
| Leukocyty ($10^9/\text{l}$) | 0,183 | 0,90 | 0,78 | 1,05 |
| CRP(mg/l) | 0,200 | 1,02 | 0,99 | 1,05 |
| IL-6 (pg/ml) | 0,597 | 1,00 | 0,99 | 1,00 |
| IL-10 (pg/ml) | 0,688 | 1,00 | 0,98 | 1,03 |
| MMP-9 (ug/ml) | 0,025* | 0,32 | 0,12 | 0,87 |
| GFAP (ng/ml) | 0,707 | 1,00 | 0,89 | 1,09 |
| S100B nad 0,15 ($\mu\text{g/l}$) | 0,006* | 5,67 | 1,66 | 19,34 |
| 25(OH)vitD (nmol/l) | 0,934 | 1,00 | 0,98 | 1,02 |
| 1,25(OH)2vitD(pg/ml) | 0,608 | 0,99 | 0,96 | 1,02 |

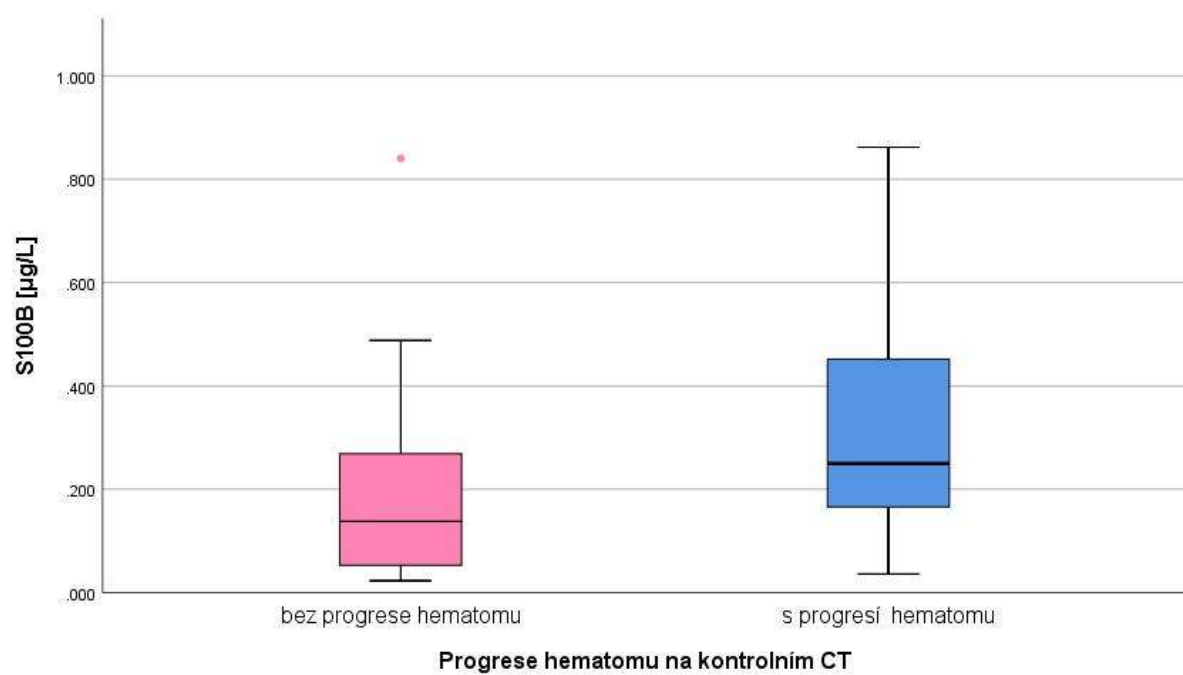
Graf 5 Vztah mezi tíží vstupního neurologického deficitu (NIHSS) a progresí hematomu na kontrolním CT



Graf 6 Vztah mezi hladinami MMP-9 a progresí hematomu na kontrolním CT



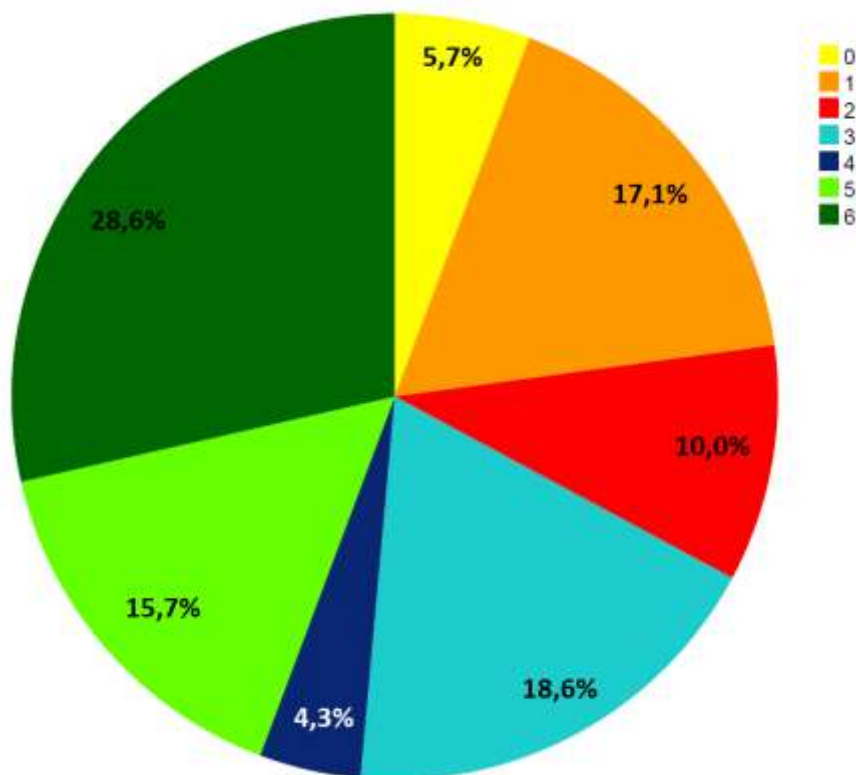
Graf 7 Vztah mezi hladinami S100B a progresí hematomu na kontrolním CT



6.4 Příznivý výsledný klinický stav po třech měsících

Rozložení nemocných podle hodnot mRS ve třech měsících od dimise ukazuje graf 8. Tabulka 5 ukazuje vliv jednotlivých sledovaných ukazatelů na příznivý výsledný klinický stav po třech měsících (mRS 0-2) hodnocený pomocí jednorozměrné logistické regresní analýzy. Při vícerozměrné analýze byly významně asociovány s příznivým výsledným klinickým stavem nemocných následující faktory: věk (OR 0,92; 95% CI 0,87 – 0,98; $p = 0,006$), S100B (signifikantní výsledky až při hodnotách nad 0,15 $\mu\text{g/l}$) (OR 0,26, 95% CI 0,07 - 0,90; $p=0,034$), progresse na CT po 24 hodinách (OR 0,16; 95% CI 0,03 – 0,97; $p=0,046$), kdy starší nemocní, nemocní s vyššími hodnotami S100B a s progresí hematomu na CT měli menší šanci dosáhnout příznivého výsledného klinického stavu.

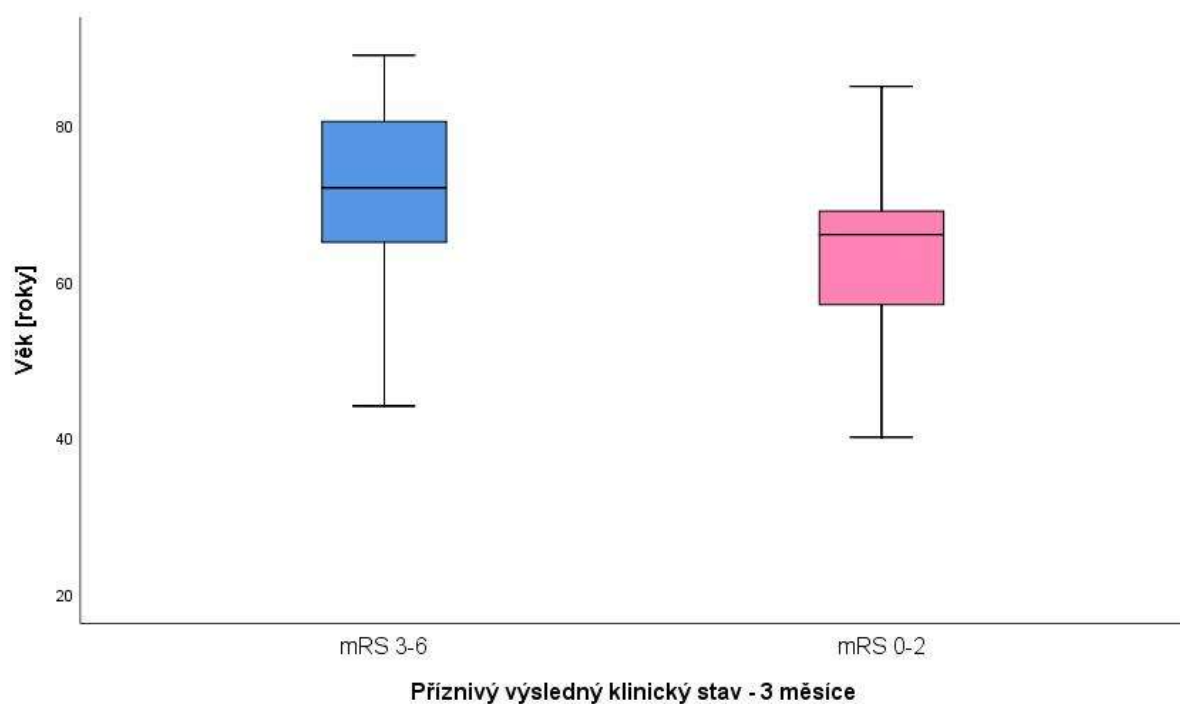
Graf 8 Rozložení nemocných dle mRS ve třech měsících od dimise



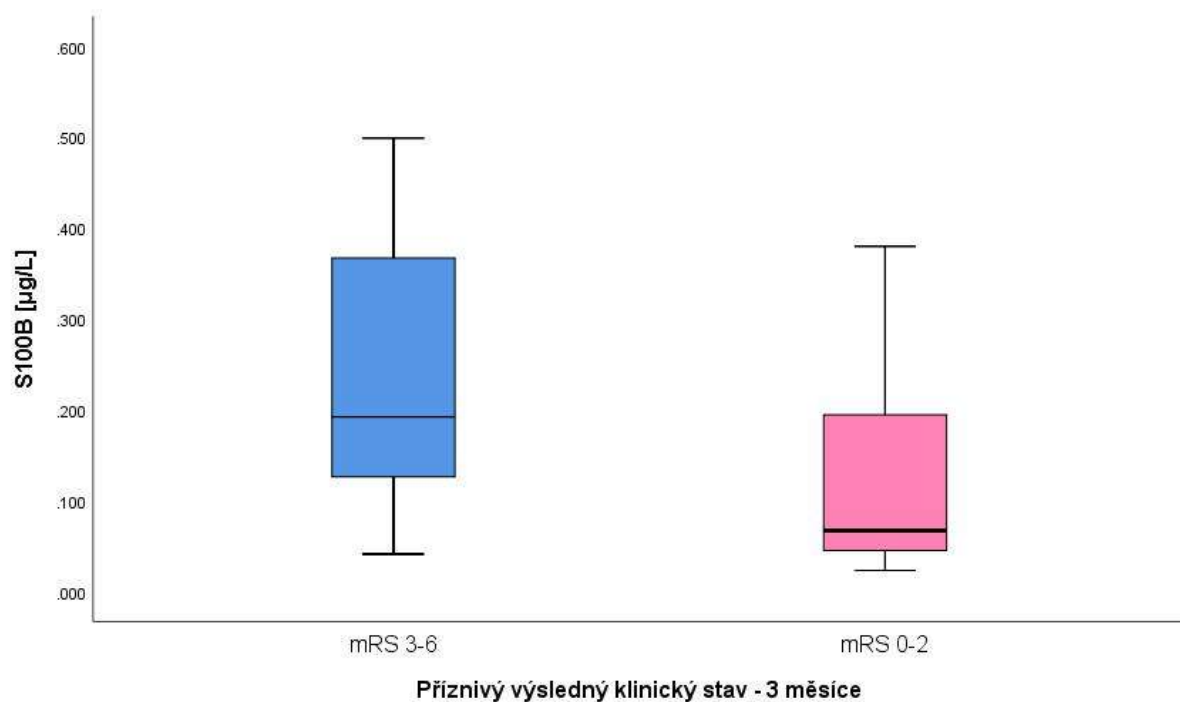
Tabulka 5 Jednorozměrná logistická regresní analýza vlivu sledovaných ukazatelů na příznivý výsledný klinický stav po třech měsících

| | Hladina významnosti (p); * < 0,05 | Poměr šancí, odds ratio, OR | 95% konfidenční interval | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------|
| | | | dolní hranice | horní hranice |
| Muž | 0,171 | 2,23 | 0,71 | 7,07 |
| Věk | 0,004* | 0,92 | 0,88 | 0,98 |
| NIHSS vstupní | 0,003* | 0,86 | 0,78 | 0,95 |
| NIHSS po 24 hodinách | 0,001* | 0,85 | 0,77 | 0,94 |
| Objem hematomu (ml) | 0,016* | 0,97 | 0,94 | 0,99 |
| Progrese hematomu | 0,014* | 0,14 | 0,03 | 0,67 |
| Cholesterol (mmol/l) | 0,203 | 1,32 | 0,86 | 2,02 |
| Glykemie (mmol/l) | 0,209 | 0,90 | 0,75 | 1,06 |
| Leukocyty (10⁹/l) | 0,587 | 0,98 | 0,89 | 1,07 |
| CRP (mg/l) | 0,582 | 0,99 | 0,97 | 1,02 |
| IL-6 (pg/ml) | 0,324 | 0,98 | 0,95 | 1,02 |
| IL-10 (pg/ml) | 0,102 | 0,98 | 0,96 | 1,00 |
| MMP-9 (ug/ml) | 0,304 | 1,42 | 0,73 | 2,78 |
| GFAP (ng/ml) | 0,273 | 1,05 | 0,96 | 1,16 |
| S100B nad 0,15 (μg/l) | 0,002* | 0,17 | 0,05 | 0,50 |
| 25(OH)vitD (nmol/l) | 0,177 | 1,01 | 0,99 | 1,04 |
| 1,25(OH)2vitD (pg/ml) | 0,010* | 1,04 | 1,01 | 1,08 |

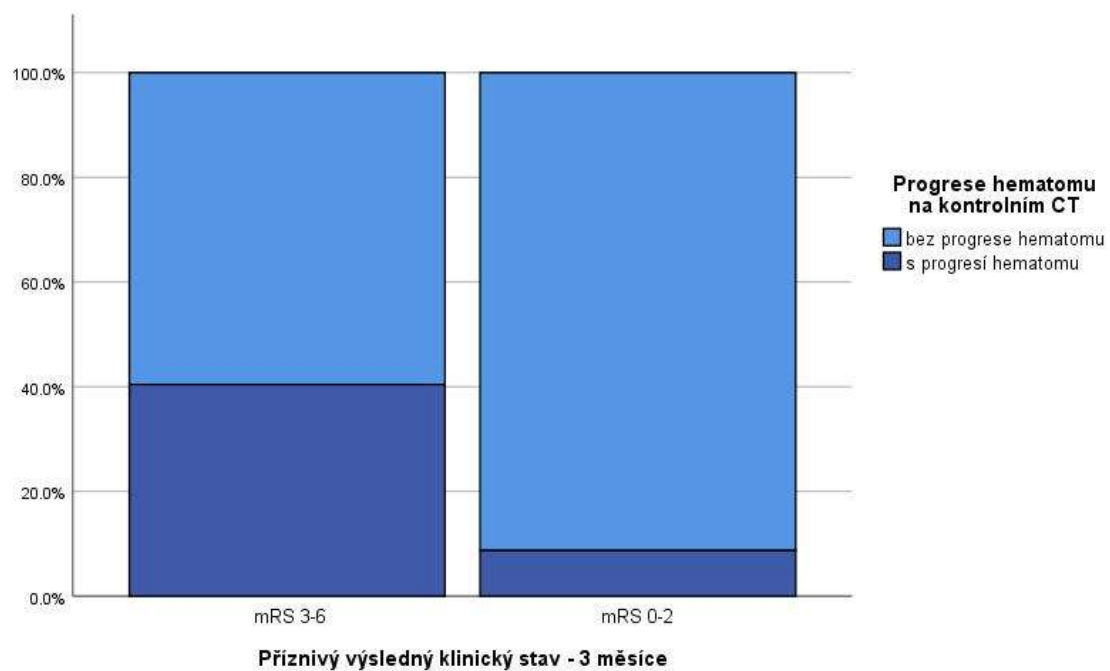
Graf 9 Vztah mezi věkem nemocných a příznivým výsledným klinickým stavem po třech měsících (mRS 0-2)



Graf 10 Vztah mezi hladinami S100B a příznivým výsledným klinickým stavem po třech měsících (mRS 0-2)



Graf 11 Vztah mezi progresí hematomu na kontrolním CT a příznivým výsledným klinickým stavem po třech měsících (mRS 0-2)



6.5 Mortalita po třech měsících

Tabulka 6 ukazuje vliv jednotlivých sledovaných ukazatelů na tříměsíční mortalitu hodnocený pomocí jednorozměrné logistické regresní analýzy, kdy byly s mortalitou po třech měsících významně asociovány: vstupní NIHSS, NIHSS po 24 hodinách, objem hematomu, progresse hematomu na kontrolním CT, z krevních biomarkerů pak pouze S100B při hodnotách nad 0,15 µg/l. Následně při vícerozměrné analýze však nebyl žádný ze zkoumaných krevních biomarkerů významně asociován s tříměsíční mortalitou.

Tabulka 6 Jednorozměrná logistická regresní analýza vlivu sledovaných ukazatelů na tříměsíční mortalitu

| | Hladina významnosti (p); * < 0,05 | Poměr šancí, odds ratio, OR | 95% konfidenční interval | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------|
| | | | dolní hranice | horní hranice |
| Muž | 0,809 | 0,87 | 0,29 | 2,61 |
| Věk | 0,058 | 1,05 | 1,00 | 1,11 |
| NIHSS vstupní | < 0,001* | 1,13 | 1,06 | 1,21 |
| NIHSS po 24 hodinách | < 0,001* | 1,12 | 1,06 | 1,19 |
| Objem hematomu | 0,001* | 1,03 | 1,01 | 1,05 |
| Progrese hematomu | < 0,001* | 14,33 | 4,12 | 49,83 |
| Cholesterol (mmol/l) | 0,070 | 0,61 | 0,36 | 1,04 |
| Glykemie (mmol/l) | 0,165 | 1,11 | 0,96 | 1,29 |
| Leukocyty (10⁹/l) | 0,761 | 0,99 | 0,91 | 1,07 |
| CRP (mg/l) | 0,178 | 1,02 | 0,99 | 1,05 |
| IL-6 (pg/ml) | 0,954 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| IL-10 (pg/ml) | 0,038 | 1,03 | 1,00 | 1,05 |
| MMP-9 (ug/ml) | 0,390 | 0,71 | 0,33 | 1,55 |
| GFAP (ng/ml) | 0,741 | 1,02 | 0,93 | 1,11 |
| S100B nad 0,15 (µg/l) | 0,009* | 5,09 | 1,49 | 17,41 |
| 25(OH)vitD (nmol/l) | 0,834 | 1,00 | 0,98 | 1,03 |
| 1,25(OH)2vitD (pg/ml) | 0,475 | 0,99 | 0,96 | 1,02 |

7 DISKUZE

Hlavní motivací k provedení prezentovaného výzkumu byla snaha o zlepšení managementu péče o nemocné se spontánním intracerebrálním krvácením. K této volbě vedla především skutečnost, že zatímco péče o nemocné s ischemickou cévní mozkovou příhodou se v posledních letech neustále rozvíjí, ať už se jedná o rychlou diagnostiku, terapeutické možnosti v akutní fázi onemocnění (především metody rekanalizační terapie) či sekundární prevenci, intracerebrální krvácení je dosud onemocnění s omezenými možnostmi zlepšení klinického výstupu nemocných.

Krevní biomarkery mají sloužit k rozšíření možností stávajících diagnostických a léčebných metod, nikoliv k jejich nahrazení. Ideální biomarker použitelný pro klinickou praxi by měl vynikat vysokou senzitivitou i specificitou, jeho stanovení by mělo být pokud možno rychlé, snadné, finančně nenáročné. Bohužel právě na poli intracerebrálních hemoragií dosud žádný takový biomarker není rutinně používán, všechny jsou pouze předmětem studií.

V naší studii jsme prokázali pozitivní korelaci S100B s progresí a objemem hematomu. Při hodnocení vztahu S100B a výsledného klinického stavu jsme zjistili, že nemocní s vyššími hodnotami S100B mají menší šanci dosáhnout příznivého výsledného klinického stavu. Tyto výsledky jsou v souladu například s prací autorů Delgado et al., kteří hodnotili plazmatické hladiny S100B u 78 nemocných s intracerebrálním krvácením [Delgado 2006].

Dále jsme prokázali pozitivní korelaci IL-10, IL-6 a glykemie s objemem hematomu - v případě IL-6 a glykemie jsou tyto korelace v souladu s publikovanými daty jiných autorů [Dziedzic 2002, Kubiak 2013]. Co se týče IL-10, byl zatím popsán spíše jeho vztah k pokračujícímu krvácení (rebleeding) nežli k rozsahu hematomu jako takovému [Wang 2011].

Interleukiny, podobně jako CRP, coby markery zánětu mohou samozřejmě reflektovat probíhající infekci. Z toho důvodu byli například ze studie Di Napoli et al. zabývající se vztahem právě hladin CRP a mortality nemocných s ICH vyloučeni nemocní s anamnézou infekčního onemocnění v posledních čtyřech týdnech před vznikem iktu [Di Napoli 2011]. V naší studii jsme toto vylučovací kritérium neměli (krom infekce CNS v posledních třech měsících), neboť se domníváme, že takováto anamnestická data nemohou být dostatečně přesná – lehčí infekci v předchorobí mohou nemocní opomenout. Také pokud nejsou sami schopni anamnestická data validně poskytnout (například z důvodu fatické poruchy či

poruchy vědomí) a anamnézu získáváme od jejich blízkých, může být tato informace snadno opomenuta. Některé infekce mohou navíc probíhat latentně.

Podobně v případě glykemie se nabízí vyloučit ze studie nemocné s diabetem, což by ovšem mimo jiného významně redukovalo soubory a prodlužovalo sběr dat. Studie autorů Kubiak et al na 168 nemocných, kdy téměř jedna čtvrtina měla anamnézu diabetu, navíc prokázala, že s objemem hematomu koreluje spíše akutní elevace glykemie nežli anamnéza diabetu [Kubiak 2013]. V naší studii byli tedy zahrnuti i diabetici.

Překvapivým výsledkem naší studie je průkaz korelace MMP-9 s progresí hematomu, kdy s růstem hematomu korelují nižší hodnoty MMP-9, což je v rozporu s dosud publikovanými studiemi, kde progresi hematomu predikují vyšší hodnoty MMP-9, jak uvádí například Silva et al. [Silva 2005]. Jedním z možných vysvětlení je skutečnost, že hladiny MMP-9 v prvních dnech po krvácení kolísají, maxima by měly podle některých autorů dosahovat až sedmý den [Castellazzi 2010]. Podle jiných autorů mohou být hladiny matrix metaloproteináz navíc závislé na faktorech, jako je například věk, počet leukocytů či hladina albuminu [Kreisel 2016]. V neposlední řadě je prokázáno, že hladiny matrix metaloproteináz dosahují odlišných hodnot v séru a v plazmě - obvykle jsou nižší v plazmě [Jonsson 2016]. V naší studii probíhalo stanovení ze séra. V době vzniku této práce jsme výsledek podobný tomu našemu v dostupné literatuře neobjevili.

Vliv hladiny vitamínu D, počtu leukocytů, CRP ani ostatních zkoumaných biomarkerů na výsledný klinický stav včetně mortality, ani na ostatní hodnocené parametry našimi daty potvrzen nebyl.

Výhodou krevních biomarkerů je možnost objektivního měření a reliabilita, oproti tomu nevýhodou riziko laboratorní chyby, často vysoké finanční náklady, a také to, že pro interpretaci výsledku může být kritické přesné načasování odběru vzorku. Z toho také plynou některé limitace dosud prováděných studií, tedy i té naší.

Mezi hlavní limity patří nehomogenní soubory. Nemocní s intracerebrálním krvácením jsou v mnoha ohledech velmi heterogenní skupinou. Jednotlivé podskupiny se liší etiologicky – může se jednat o hypertonické krvácení, krvácení na podkladě amyloidové angiopatie, krvácení z aneuryzmatu či cévní malformace (kavernom, arteriovenózní malformace, vzácně pak například durální píštěle), iatrogeně navozené krvácení při antitrombotické léčbě (nejčastěji antikoagulancia – warfarin, heparin, nízkomolekulární heparin, přímá orální antikoagulancia, v případě antiagregancií častěji u duální antiagregace v kombinaci s dalšími faktory), koagulopatie při jiném onemocnění (leukemie, hepatopatie včetně alkoholové, trombocytopenie atd.), krvácení při abusu drog (především u mladších nemocných). V drtivé

většině studií selekce nemocných na základě etiologie neproběhla. Z naší studie byli vyloučeni nemocní s krvácením z aneuryzmatu či cévní malformace a nemocní se známou koagulopatií (i iatrogeně navozenou), z tohoto pohledu byl tedy soubor homogenní.

Podle lokalizace se ICH dělí na supratentoriální – 85% (hluboko uložené hematomy 55%, kortikální 30%), infratentoriální – 15% (mozečkové 10%, kmenové 5%). Stranou stojí krvácení intraventrikulární (primární či sekundární), které bylo v části studií (v případě čistě intraventrikulárního krvácení včetně té naší) vylučujícím kritériem pro zařazení do studie, jinak však lokalizace krvácení při výběru nemocných mnohými autory (a ani námi) zohledňována nebyla.

Vliv na hodnocení hladin některých biomarkerů mohou mít i systémová onemocnění, avšak ani takoví nemocní nebyli v některých případech (včetně našeho) ze studie vyloučeni.

Naopak řada studií pracuje se skupinami zdravých kontrol.

Dalším velmi podstatným faktorem je načasování odběru a také jeho případné opakování. Hladiny biomarkerů kolísají v čase, mohou se tedy samozřejmě lišit v závislosti jednak na době od vzniku potíží nemocného, jednak na časování odběru vzorku ve zdravotnickém zařízení. Některé studie pracují s jedním odběrem, v jiných se odběry s určitým odstupem opakují. Nezodpovězenou otázkou zůstává, jak dlouhé by tyto časové intervaly měly být. Opakování odběrů se sice jeví jako přínosné, je však pochopitelně zatíženo vyššími finančními náklady. Právě časová kritéria jsou jednou z limitací i naší studie, která pracovala s jednou sérií náběrů. K minimalizaci rozdílů mezi vzorky od jednotlivých nemocných byly tyto náběry provedeny v co nejkratším možném čase od přijetí nemocných (nejpozději do dvou hodin).

K rozdílným výsledkům může vést také stanovování biomarkerů ze séra a z plazmy. U některých biomarkerů (např. u matrix metaloproteináz – viz výše) se mohou hladiny významně lišit podle toho, zda jsou stanovovány z plazmy či ze séra. Ani v tomto není design prováděných studií jednotný.

V neposlední řadě je důležitá velikost souboru nemocných. Jednou z nejčastějších limitací dosud provedených studií je totiž hodnocení malého počtu nemocných. Jen několik z nich bylo provedeno na rozsáhlejší souboru. Tato limitace je pochopitelná vzhledem k tomu, že z celkového počtu cévních mozkových příhod tvoří ICH pouze 20% (5% připadá na subarachnoidální krvácení), studie zaměřené na ischemické ikty, kterých je 80%, jsou v tomto ohledu logicky zvýhodněné. Ke shromáždění dostatečného počtu nemocných jsou tedy zapotřebí dlouhá časová období či multicentrické studie. V literatuře je však dostupná i řada prací s menšími soubory než náš.

Zvláštností některých BBM, zde konkrétně v případě matrix metaloproteináz (nebo obecněji gelatináz) je potenciál jejich využití – respektive využití inhibice jejich účinku – také coby terapeutického přístupu u ICH. Vzhledem k jejich nespornému podílu na patofyziologii ICH se toto stává zajímavou možností, která byla dosud zkoumána na několika experimentálních modelech ICH. Například Wang et al. testovali GM6001, širokospektrý inhibitor metaloproteináz, na myších modelech při intraperitoneálním podávání [Wang 2005]. Podařilo se jim prokázat signifikantní snížení sekundárního poškození mozku – třetí den po aplikaci inhibitoru se zmenšil perihematomální edém a došlo také ke zlepšení neurologického deficitu. Ve studii autorů Rosenberg et al. bylo zjištěno významné snížení permeability hematoencefalické bariéry při použití matrix metaloproteinázových inhibitorů BB-1101, BB-94, minocyklinu a 10% dimethylsulfoxidu, ostatní zkoumané inhibitory včetně výše zmiňovaného GM6001 vyšly ovšem v této studii jako neúčinné [Rosenberg 2007]. Oproti tomu výsledky studie Grossetete et al. ukazují vliv BB-94 na zmenšení hematomu, ovšem bez efektu na perihematomální edém [Grossetete 2008].

I v tomto případě tedy můžeme označit výsledky studií za kontroverzní. Zajímavé také je, že velká část testovaných inhibitorů pochází původně z onkologických výzkumů, kde jsou testovány jako antimetastatické látky. Tyto inhibitory jsou většinou nespecifické, což sice znamená široké spektrum funkcí, ovšem také celou řadu nevyhnutelných vedlejších účinků spojených především s dlouhodobou supresí základních fyziologických procesů zprostředkovaných matrix metaloproteinázami [Overall 2006].

Krevní biomarkery nemohou z podstaty věci nahradit standardně používané metody a parametry, jakými jsou především zobrazovací metody, škálovací systémy založené na hodnocení klinického nálezu a jiné. V případě, že by byly zavedeny do běžné medicínské praxe, by však tyto mohly vhodným způsobem doplnit. To vyplývá například z výsledků studie Di Napoli et al., kteří prokázali, že CRP může zlepšit možnosti predikce mortality, pokud je hodnocené v kombinaci s Hemphillovým ICH skóre [Di Napoli 2011]. Podobně i v naší studii se v predikci výsledného klinického stavu krom laboratorního markeru – S100B uplatnil i parametr klinický – věk nemocných a parametr radiodiagnostický – progresse hematomu na CT. Také s progresí hematomu dle našich výsledků nesouvisí pouze BBM (S100B a MMP-9), ale také vstupní neurologický deficit (NIHSS).

Výsledky naší studie ukazují do budoucna možný potenciál několika krevních biomarkerů, především S100B, IL-6, IL-10 a glykemie, částečně doplňovat, nikoliv však nahrazovat klinické a radiodiagnostické parametry v procesu péče o nemocné

s intracerebrálním krvácením, za předpokladu jejich dalšího zkoumání při opakovaných odběrech a na větším počtu nemocných.

8 BUDOUCNOST KREVNÍCH BIOMARKERŮ U INTRACEREBRÁLNÍHO KRVÁCENÍ, VÝZNAM PRO KLINICKOU PRAXI

Evropská iktová organizace (European Stroke Organisation – ESO) připravila v kooperaci s pacientskou organizací SAFE (Stroke Alliance for Europe) evropský akční iktový plán pro období 2018-2030 (European Stroke Action Plan) (<https://eso-stroke.org/action-plan-stroke-europe-2018-2030-2>). Čtyřmi hlavními pilíři tohoto plánu jsou: 1) redukce absolutního počtu iktů v Evropě o 10%, 2) více než 90% nemocných s CMP přijatých a léčených na iktové jednotce, 3) národní plány pro ikty zahrnující celý řetězec péče, 4) implementace národních strategií pro multisektorové intervence v oblasti veřejného zdravotnictví.

Součástí tohoto plánu je samozřejmě i zlepšení a sjednocení postupů péče o nemocné s ICH. Jedním z cílů pro rok 2030 je v akčním iktovém plánu snížení míry úmrtnosti v prvním měsíci od příhody pod 25% a zvýšení počtu nemocných s příznivým výsledným klinickým stavem nad 50%.

Diagnostickým standardem má být CT+CTA, či MR+MRA neprodleně po přijetí nemocného do zdravotnického zařízení, dále v případě potřeby DSA (digitální subtrakční angiografie). Tito nemocní by měli být hospitalizováni na iktové jednotce, neboť to se ukázalo jako zatím jediná léčba, která přináší jednoznačný benefit. Sekundární prevence má zahrnovat především snížení krevního tlaku.

Stejně jako doposud je u všech typů CMP kladen důraz na rychlost – co nejrychlejší diagnostika, co nejrychlejší zahájení léčby.

Krevní biomarkery by mohly příznivě zasáhnout do péče o nemocné s ICH prakticky ve všech krocích – jak ve fázi diagnostické, tak terapeutické a také v procesu prognózování. Možnosti jejich studia se neustále rozvíjejí, nové studie a různé přístupy od genomiky po proteomiku s sebou zajisté nesou velký potenciál. Pro zavedení BBM do běžné klinické praxe je však potřeba dalších studií k prokázání skutečného přínosu těchto BBM. Tyto studie by měly být prováděny na dostatečně velkých souborech nemocných (optimálně multicentrické studie, prospektivní zařazování nemocných do registrů), benefit BBM by měl být hodnocen v kombinaci s dostupnými zobrazovacími a klinickými skórovacími systémy. Efektivita výzkumu může být v této fázi zvýšena mezinárodní spoluprací a sdílenými zdroji, jako jsou

například zdroje poskytnuté Konsorciem pro výzkum krevních biomarkerů u cévních mozkových příhod (<http://stroke-biomarkers.com>) (Senn).

9 ZÁVĚR

Predikce výsledného klinického stavu a mortality nemocných s intracerebrálním krvácením je v časném stadiu pouze na základě klinických dat obtížná. Navzdory prvotní vlně optimismu přináší minulý i současný výzkum krevních biomarkerů rozporupné výsledky, nekonkluzivní a dokonce konfliktní studie.

Cílem naší studie bylo pokusit se nalézt prognostický krevní biomarker, který by mimo jiné napomohl v rozhodování o optimální kategorizaci léčby těchto nemocných. Námi zvolené laboratorní biomarkery byly však klinickými parametry v procesu prognózování převáženy, jediným hraničně významným BBM je zde S100B.

Dalším cílem bylo zhodnocení vztahu vybraných krevních biomarkerů a zkoumaných klinických a radiodiagnostických parametrů. V tomto případě vychází jako statisticky významná korelace MMP-9 s progresí hematomu, kdy nižší hodnoty MMP-9 predikují progresi hematomu. Pozitivní korelace S100B s progresí a objemem hematomu, stejně jako IL-6, IL-10 a glykemie s objemem hematomu v naší studii jsou v souladu s dosud publikovanými daty.

V současnosti není v klinické praxi stále běžně dostupný krevní biomarker pro využití v diagnostice, managementu či stanovení prognózy pacientů s intracerebrálním krvácením. Ačkoli je mnoho biomarkerů účastnících se různých patofyziologických mechanismů intenzivně zkoumáno, role některých není dosud zcela objasněna a k optimalizaci výsledků je třeba dalších rozsáhlejších, kvalitně designovaných, ideálně multicentrických studií.

10 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AHA/ASA - American Heart Association/American Stroke Association
APC – antigen presenting cells (buňky prezentující antigen)
BBM – blood biomarker (krevní biomarker)
BNP – natriuretic peptid (mozkový natriuretický peptid)
CMP – cévní mozková příhoda
CNS – centrální nervový systém
CRP – C-reaktivní protein
CT – výpočetní tomografie
CVSCP – centrum vysoce specializované cerebrovaskulární péče
CVSPPI – centrum vysoce specializované péče o pacienty s iktem
DOAC – direct oral anticoagulants (přímá orální antikoagulancia)
ESO – European Stroke Organisation
FFP – fresh frozen plasma (čerstvá mražená plazma)
G-CSF – granulocyte-colony stimulating factor (růstový faktor pro granulocytární řadu leukocytů)
GCS – Glasgow Coma Scale
GFAP – gliální fibrilární acidický protein
HDL – high density lipoprotein (vysokodenzitní lipoprotein)
HEB – hematoencefalická bariéra
HMGB1 – high mobility group box 1 (vysoce mobilní protein 1)
IC – iktové centrum
ICAM-1 – intercellular adhesion molecule 1 (adhezní molekula z imunoglobulinové superrodiny)
ICH – intracerebrální hemoragie
IL-4 – interleukin 4
IL-6 – interleukin 6
IL-10 – interleukin 10
IL-13 – interleukin 13
IQR – interquartile range (mezikvartilové rozpětí)
IVT – intravenózní trombolýza
JIP – jednotka intenzivní péče
KCC – komplexní cerebrovaskulární centrum
LDL – low density lipoprotein (nizkodenzitní lipoprotein)
MMP – matrix metaloproteinázy
MMP-9 – matrix metaloproteináza 9
MR – magnetická rezonance
mRS – modifikovaná Rankinova škála
NIHSS – National Institute of Health Stroke Scale
PAI – inhibitor aktivátoru plazminogenu
PAMPs – pathogen-associated molecular patterns
PRR – pathogen-recognition-receptors

rtPA – rekombinantní tkáňový aktivátor plazminogenu
SAFE – Stroke Alliance for Europe
SD – standard deviation (směrodatná odchylka)
TNF-alfa – tumor necrosis factor alfa
TK – krevní tlak
VAP-1 – vaskulární adhezivní protein 1
VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor
VLDL – very low density lipoprotein (velmi nízkodenzitní lipoprotein)
1,25(OH)₂vitD – 1,25-dihydroxyvitamin D
25(OH)vit D – 25-hydroxyvitamin D

11 SEZNAM OBRAZOVÝCH PŘÍLOH

Obrázky

- Obrázek 1 Patofyziologie ICH – dvoufázový model (mechanické a nemechanické poškození)
Obrázek 2 Krvácení do bazálních ganglií vlevo, CT – vstupní vyšetření
Obrázek 3 Progrese krvácení do bazálních ganglií vlevo, CT – kontrola po 24 hodinách
Obrázek 4 Síť specializovaných pracovišť pro léčbu cerebrovaskulárních onemocnění v České republice
Obrázek 5 Výpočet objemu hematomu – vzorec $A \times B \times C/2$

Tabulky

- Tabulka 1 Přehled hodnocených krevních biomarkerů a metod stanovení
Tabulka 2 Sledované klinické a radiodiagnostické parametry
Tabulka 3 Základní charakteristika souboru
Tabulka 4 Jednorozměrná logistická regresní analýza vlivu sledovaných ukazatelů na progresi hematomu
Tabulka 5 Jednorozměrná logistická regresní analýza vlivu sledovaných ukazatelů na příznivý výsledný klinický stav po třech měsících
Tabulka 6 Jednorozměrná logistická regresní analýza vlivu sledovaných ukazatelů na tříměsíční mortalitu

Grafy

- Graf 1 Vztah mezi hladinami S100B a objemem hematomu
Graf 2 Vztah mezi hladinami IL-10 a objemem hematomu
Graf 3 Vztah mezi hladinami IL-6 a objemem hematomu
Graf 4 Vztah mezi hodnotami glykemie a objemem hematomu
Graf 5 Vztah mezi tíží vstupního neurologického deficitu (NIHSS) a progresí hematomu na kontrolním CT
Graf 6 Vztah mezi hladinami MMP-9 a progresí hematomu na kontrolním CT
Graf 7 Vztah mezi hladinami S100B a progresí hematomu na kontrolním CT
Graf 8 Rozložení nemocných dle mRS ve třech měsících od dimise
Graf 9 Vztah mezi věkem nemocných a příznivým výsledným klinickým stavem po třech měsících (mRS 0-2)
Graf 10 Vztah mezi hladinami S100B a příznivým výsledným klinickým stavem po třech měsících (mRS 0-2)
Graf 11 Vztah mezi progresí hematomu na kontrolním CT a příznivým výsledným klinickým stavem po třech měsících (mRS 0-2)

12 LITERATURA

Abilleira S, Montaner J, Molina CA, Monasterio J, Castillo J, Alvarez-Sabin J. Matrix metalloproteinase-9 concentration after spontaneous intracerebral hemorrhage. *J Neurosurg* 2003;99(1):65-70.

Agnihotri S, Czap A., Staff I., Fortunato G, McCullough LD. Peripheral leukocyte counts and outcomes after intracerebral hemorrhage. *J Neuroinflammation* 2011;8:160.

Bakradze E, McCullough LD, Staff I, Nouh A. Vitamin D deficiency correlates with stroke severity on presentation in intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2016;47:Supp 1.

Boulouis G, Morotti A, Charidimou A, Dowlathshahi D, Goldstein JN. Noncontrast computed tomography markers of intracerebral hemorrhage expansion. *Stroke* 2017;48(4):1120-1125.

Brunkhorst R, Pfeilschifter W, Foerch C. Astroglial proteins as diagnostic markers of acute intracerebral hemorrhage – pathophysiological background and clinical findings. *Transl Stroke Res* 2010;1(4):246-251.

Carcel C, Wang X, Sato S, Stapf C, Sandset EC, Delcourt C et al, INTERACT2 Investigators. Degree and timing of intensive blood pressure lowering on hematoma growth in intracerebral hemorrhage trial-2 results. *Stroke* 2016;47(6):1651-1653.

Castellazzi M, Tamborino C, De Santis G, Garofano F, Lupato A, Ramponi V et al. Timing of serum active MMP-9 and MMP-2 levels in acute and subacute phases after spontaneous intracerebral hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl* 2010;106:137-140.

Couper KN, Blount DG, Riley EM. IL-10: The master regulator of immunity to infection. *J Immunol* 2008;180(9):5771-5777.

Delgado P, Alvarez Sabin J, Santamarina E, Molina CA, Quintana M, Rosell A et al. Plasma S100B level after acute spontaneous intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2006;37(11):2837-2839.

Di Napoli M, Godoy DA, Campi V., del Valle M, Piñero G, Mirofsky M et al. C-reactive protein level measurement improves mortality prediction when added to the spontaneous intracerebral hemorrhage score. *Stroke* 2011;42(5):1230-1236.

Drucker E, Krapfenbauer K. Pitfalls and limitations in translation from biomarker discovery to clinical utility in predictive and personalised medicine. *EPMA J* 2013;4(1):7.

Dziedzic T, Bartus S, Klimkowicz A, Motyl M, Slowik A, Szczudlik A. Intracerebral hemorrhage triggers interleukin-6 and interleukin-10 release in blood. *Stroke* 2002;33(9):2334-2335.

Elliott J, Smith M. The acute management of intracerebral hemorrhage: a clinical review. *Anesth Analg* 2010;110(5):1419-1427.

Ellis J, Lange EM, Li J, Dupuis J, Baumert J, Walston JD et al. Large multiethnic candidate gene study for C-reactive protein levels: identification of a novel association at CD36 in African Americans. *Hum Genet* 2014;133(8):985-995.

Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* 2000;25(9-10):1439-1451.

Foerch C, Niessner M, Back T, Bauerle M, De Marchis GM, Ferbert A et al. Diagnostic accuracy of plasma glial fibrillary acidic protein for differentiating intracerebral hemorrhage and cerebral ischemia in patients with symptoms of acute stroke. *Clin Chem* 2012;58(1):237-245.

Fu Y, Hao J, Zhang N, Ren L, Sun N, Li YJ et al. Fingolimod for the treatment of intracerebral hemorrhage: a 2-arm proof-of-concept study. *JAMA Neurol* 2014;71(9):1092-1101.

Garcia JM, Stillings SA, Leclerc JL, Phillips H, Edwards NJ, Robicsek SA et al. Role of interleukin-10 in acute brain injuries. *Front Neurol* 2017;8:244.

Glushakova OY, Glushakov AV, Miller ER, Valadka AB, Hayes RL. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain Circ* 2016;2(1):28-47.

Goldstein LB. The complex relationship between cholesterol and brain hemorrhage. *Circulation* 2009;119(16):2131-2133.

Goldstein LB, Bushnell CD, Adams RJ, Appel LJ, Braun LT, Chaturvedi S et al. Guidelines for the primary prevention of stroke: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011;42(2):517-584.

Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thoirgersson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation, and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997;74:11-122.

Grossetete M, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinase inhibition facilitates cell death in intracerebral hemorrhage in mouse. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008;28(4):752-763.

Hanley DF, Thompson RE, Rosenblum M, Yenokyan G, Lane K, McBee N et al. Efficacy and safety of minimally invasive surgery with thrombolysis on intracerebral haemorrhage evacuation (MISTIE III): a randomised , controlled , open-label blinded endpoint phase 3 trial. Lancet 2019 (Epub ahead of print).

Hemphill JC 3rd, Bonovich DC, Besmertis L, Manley GT, Johnston SC. The ICH score: a simple, reliable grading scale for intracerebral hemorrhage. Stroke 2001;32(4):891-897.

Hemphill JC 3rd, Greenberg SM, Anderson CS, Becker K, Bendok BR, Cushman M et al, American Heart Association Stroke Council, Council on Cardiovascular and Stroke Nursing, Council on Clinical Cardiology. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage: A guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke 2015;46(7):2032-2060.

Hill AB. The environment and disease: association or causation? Proc R Soc Med 1965;58:295–300.

<https://eso-stroke.org/action-plan-stroke-europe-2018-2030-2>

<http://stroke-biomarkers.com>

Hu YY, Dong XQ, Yu WH, Zhang ZY. Change in plasma S100B level after acute spontaneous basal ganglia hemorrhage. Shock 2010;33(2):134-140.

Chetty RK, Ozer JS, Lanevski A, Schuppe-Koistinen I, McHale D, Pears JS et al. A systematic approach to preclinical and clinical safety biomarker qualification incorporating Bradford Hill's principles of causality association. Clin Pharmacol Ther 2010 Aug;88(2):260-262.

James ML, Blessing R, Phillips-Bute BG, Bennett E, Laskowitz DT. S100B and brain natriuretic peptide predict functional neurological outcome after intracerebral haemorrhage. Biomarkers 2009;14(6):388-394.

Jonsson A, Hjalmarsson C, Falk P, Ivarsson ML. Levels of matrix metalloproteinases differ in plasma and serum – aspects regarding analysis of biological markers in cancer. Br J Cancer 2016;115(6):703-706.

Judd SE, Morgan CHJ, Panwar B, Howard VJ, Wadley VG, Jenny NS. Vitamin D deficiency and incident stroke risk in community-living black and white adults. Int J Stroke 2016;11(1):93-102.

Kalvach P. a kol. Mozkové ischemie a hemoragie. 3. vydání: Grada Publishing 2010.

Kazda A. a kol. Kritické stavy. 1. vydání: Galén 2012.

Keep RF, Hua Y, Xi G. Intracerebral haemorrhage: Mechanisms of injury and therapeutic targets. *Lancet Neurol* 2012;11:720-731.

Kim JB, Sig Choi J, Yu YM, Nam K, Piao CS, Kim SW et al. HMGB1, a novel cytokine-like mediator linking acute neuronal death and delayed neuroinflammation in the postischemic brain. *J Neurosci* 2006;26:6413-6421.

Kim SJ, Moon GJ, Bang OY. Biomarkers for stroke. *J Stroke* 2013;15(1):27-37.

Kothari RU, Brott T, Broderick JP, Barsan WG, Sauerbeck LR, Zuccarello M et al. The ABCs of measuring intracerebral hemorrhage volumes. *Stroke* 1996;27(8):1304-1305.

Kreisel SH, Stroick M, Griebel M, Alonso A, Reuter B, Hennerici MG et al. True effects or bias? MMP-2 and MMP-9 serum concentrations after acute stroke. *Cerebrovasc Dis* 2016;42(5-6):352-360.

Kubiak C, Mohamed W., Bhattacharya P. Admission blood glucose predicts high hematoma volume in intracerebral hemorrhage. *Neurology* 2013;80:Supp 7.

Kuramatsu JB, Gerner ST, Schellinger PD, Glahn J, Endres M, Sobesky J et al. Anticoagulant reversal, blood pressure levels, and anticoagulant resumption in patients with anticoagulation-related intracerebral hemorrhage. *JAMA* 2015;313(8):824-836.

Lee IN, Cheng WC, Chung CY, Lee MH, Lin MH, Kuo CH et al. Dexamethasone reduces brain cell apoptosis and inhibits inflammatory response in rats with intracerebral hemorrhage. *J Neurosci Res* 2015;93(1):178-188.

Lee SH, Kim BJ, Bae HJ, Lee JS, Lee J, Park BJ et al. Effects of glucose level on early and long-term mortality after intracerebral hemorrhage: the Acute Brain Bleeding Analysis Study. *Diabetologia* 2010;53(3):429-434.

Lei J, Gao G, Feng J, Jin Y, Wang C, Mao Q et al. Glial fibrillary acidic protein as a biomarker in severe traumatic brain injury patients: a prospective cohort study. *Crit Care* 2015;19:362.

Lu L, Barfejani AH, Qin T, Dong Q, Ayata C, Waeber Ch. Fingolimod exerts neuroprotective effects in a mouse model of intracerebral hemorrhage. *Brain Res* 2014;1555:89-96

Mayeux R. Biomarkers: Potential Uses and Limitations. *NeuroRx* 2004;1(2):182–188.

Mendelow AD, Gregson BA, Fernandes HM, Murray GD, Teasdale GM, Hope DT et al. Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial intracerebral haematomas in the International Surgical Trial in Intracerebral Haemorrhage (STICH): a randomised trial. *Lancet* 2005;365(9457):387-397.

Mendelow AD, Gregson BA, Rowan EN, Murray GD, Gholkar A, Mitchell PM, STICH II Investigators. Early surgery versus initial conservative treatment in patients with spontaneous supratentorial lobar intracerebral haematomas (STICH II): a randomised trial. *Lancet* 2013;382(9890):397-408.

Michetti F, Corvino V, Geloso MC, Lattanzi W, Bernardini C, Serpero L et al. The S100B protein in biological fluids: more than a lifelong biomarker of brain distress. *J Neurochem* 2012;120(5):644-659.

Missler U, Wiesmann M, Wittmann G, Magerkurth O, Hagenström H. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clin Chem* 1999;45(1):138-141.

Mraček J. Dekompresivní kraniektomie. 1. vydání: Galén 2016.

Nagase H, Woessner JF jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491-21494.

Newman CG. Clarification of abc/2 rule for ICH volume. *Stroke* 2007;38:862.

Olsson T, Marklund N, Gustafson Y, Näsman B. Abnormalities at different levels of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis early after stroke. *Stroke* 1992;23(11):1573-1576.

Oto J, Suzue A, Inui D, Fukuta Y, Hosotsubo K, Torii M et al. Plasma proinflammatory and anti-inflammatory cytokine and catecholamine concentrations as predictors of neurological outcome in acute stroke patients. *J Anesth* 2008;22(3):207-212.

Overall CM, Kleinfeld O. Towards third generation matrix metalloproteinase inhibitors for cancer therapy. *Br J Cancer* 2006;94(7):941-946.

Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology: recent advances and future directions. *Carcinogenesis* 2000;21(3):517-524.

Qureshi AI, Mendelow AD, Hanley DF. Intracerebral haemorrhage. *Lancet* 2009;373:1632-1644.

Qureshi AI, Palesch YY, Barsan WG, Hanley DF, Hsu ChY, Martin RL et al, for the ATACH-2 trial investigators and the Neurological emergency treatment trials network. Intensive blood-pressure lowering in patients with acute cerebral hemorrhage. *N Engl J Med* 2016;375(11):1033-1043.

Reiner AP, Beleza S, Franceschini N, Auer PL, Robinson JG, Kooperberg C et al. Genome-wide association and population genetic analysis of C-reactive protein in African American and Hispanic American women. *Am J Hum Genet* 2012;91(3):502-512.

Rodriguez-Luna D, Rubiera M, Ribo M, Coscojuela P, Pagola J, Piñeiro S et al. Serum low-density lipoprotein cholesterol level predicts hematoma growth and clinical outcome after acute intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2011;42(9):2447-2452.

Rosenberg GA, Estrada EY, Mobashery S. Effect of synthetic matrix metalloproteinase inhibitors on lipopolysaccharide-induced blood-brain barrier opening in rodents: Differences in response based on strains and solvents. *Brain Res* 2007;1133(1):186-192.

Rost NS, Smith EE, Chang Y, Snider RW, Chanderraj R, Schwab K et al. Prediction of functional outcome in patients with primary intracerebral hemorrhage: the FUNC score. *Stroke* 2008;39(8):2304-2309.

Roubec M, Krajíčková D, Hommerová J, Kešnerová P, Klimošová S, Rapantová P et al. Prediktory pozitivního léčebného výsledku u pacientů s akutní cévní mozkovou příhodou podstupujících endovaskulární léčbu –výsledky z registru CERBERUS. *Cesk Slov Neurol N* 2017;80(6):666-674.

Selim M. Deferoxamine mesylate: a new hope for intracerebral hemorrhage: from bench to clinical trials. *Stroke* 2009;40(3 Suppl):90-91.

Senn R, Elkind MS, Montaner J, Christ-Crain M, Katan M. Potential role of blood biomarkers in the management of nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis* 2014;38(6):395-409.

Shakir SA, Layton D. Causal association in pharmacovigilance and pharmacoepidemiology: thoughts on the application of the Austin Bradford-Hill criteria. *Drug Saf* 2002;25(6):467–471.

Schlunk F, Greenberg SM. The pathophysiology of intracerebral hemorrhage formation and expansion. *Transl Stroke Res* 2015;6(4):257-263.

Silva Y, Leira R, Tejada J, Lainez JM, Castillo J, Dávalos A. Molecular signatures of vascular injury are associated with early growth of intracerebral hemorrhage. *Stroke* 2005;36(1):86-91.

Spustová V, Dzúrik R. Mechanismus účinku vitamínu D. *Osteol Bull* 2002;50-53.

Ševčík P. Agresivní léčba intracerebrální hemoragie se snižováním krevního tlaku a indikací operace – NE. *Cesk Slov Neurol N* 2018;81(4):393.

Šrámek M. Agresivní léčba intracerebrální hemoragie se snižováním krevního tlaku a indikací operace – ANO. *Cesk Slov Neurol N* 2018;81(4):392.

Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine. *Structure* 1999;7(2):169-177.

Turetsky A, Goddeau RP jr, Henninger N. Low serum vitamin D is independently associated with larger lesion volumes after ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2015;24(7):1555-1563.

Undén J, Strandberg K, Malm J, Campbell E, Rosengren L, Stenflo J et al. Explorative investigation of biomarkers of brain damage and coagulation system activation in clinical stroke differentiation. *J Neurol* 2009;256(1):72-77.

Valappil AV, Chaudhary NV, Praveenkumar R, Gopalakrishnan B, Girija AS. Low cholesterol as a risk factor for primary intracerebral hemorrhage: A case-control study. *Ann Indian Acad Neurol* 2012;15(1):19-22.

Van Asch CJ, Luitse MJ, Rinkel GJ, van der Tweel I, Algra A, Klijn CJ. Incidence, case fatality, and functional outcome of intracerebral hemorrhage over time, according to age, sex, and ethnic origin: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2010;9(2):167-176.

Wang J, Tsirka SE. Contribution of extracellular proteolysis and microglia to intracerebral hemorrhage. *Neurocrit Care* 2005;3:77-85.

Wang J, Tsirka SE. Neuroprotection by inhibition of matrix metalloproteinases in a mouse model of intracerebral haemorrhage. *Brain* 2005;128:1622-1633.

Wang KW, Cho CL, Chen HJ, Liang CL, Liliang PC, Tsai YD et al. Molecular biomarker of inflammatory response is associated with rebleeding in spontaneous intracerebral hemorrhage. *Eur Neurol* 2011;66(6):322-327.

Wang X, Dong Y, Qi X, Huang C, Hou L. Cholesterol levels and risk of hemorrhagic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Stroke* 2013;44(7):1833-1839.

Wasserman DH. Four grams of glucose. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;296(1):E11-21.

Wei ZN, Kuang JG. Vitamin D deficiency in relation to the poor functional outcomes in nondiabetic patients with ischemic stroke. *Biosci Rep* 2018;38(2):BSR20171509.

Wu H, Zhang Z, Hu X, Zhao R, Song Y, Ban X et al. Dynamic changes of inflammatory markers in brain after hemorrhagic stroke in humans: a postmortem study. *Brain Res* 2010;1342:117-117.

Xi G, Fewel ME, Hua Y, Thompson BG jr, Hoff JT, Keep RF. Intracerebral hemorrhage: pathophysiology and therapy. *Neurocrit Care* 2004;1(1):5-18.

Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage. *Lancet Neurol* 2006;5(1):53-63.

Xi G, Wagner KR, Keep RF, Hua Y, de Courten-Myers GM, Broderick JP et al. Role of blood clot formation on early edema development after experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1998;29(12):2580-2586.

Zazulia AR, Diringer MN, Derdeyn CP, Powers WJ. Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 1999;30(6):1167-73.

Zhou R, Wang M, Huang H, Li W, Hu Y, Wu T. Lower vitamin D status is associated with an increased risk of ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients* 2018;10(3):277.

13 PUBLIKAČNÍ AKTIVITA

Hommerová J, Mraček J, Mukenšnabl P, Holubec L, Polívka J, Přibáň V. Mnohočetné extraneurální metastázy anaplastického astrocytomu – kazuistika. *Cesk Slov Neurol N* 2013;76/109(6):745-750.

Mracek J, Mork J, Stepanek D, Holeckova I, **Hommerova J**, Ferda J, Priban V. Urgent extracranial-intracranial bypass in the treatment of acute hemodynamic ischemic stroke: case report. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg* 2013;74(5):325-331.

Mork J, Štěpánek D, Runt V, **Hommerová J**, Přibáň V. Raritní použití dekompresivní hemikraniektomie u nemocného s abscesem mozku – kazuistika. *Cesk Slov Neurol N* 2014;77/110(6):765-768.

Mracek J, **Hommerova J**, Mork J, Richt P, Priban V. Complications of cranioplasty using a bone flap sterilised by autoclaving following decompressive craniectomy. *Acta Neurochir* 2015;157(3):501-506.

Hommerová J. Krevní biomarkery u spontánní intracerebrální hemoragie – historie a současné postavení. *Plzeň. lék. Sborn.* 2017, Suppl 87:155.159.

Roubec M, Krajíčková D, **Hommerová J**, Kešnerová P, Klimošová S, Rapantová P, Herzig R, Školoudík D, Cerberus Study Group. Prediktory pozitivního léčebného výsledku u pacientů s akutní cévní mozkovou příhodou podstupujících endovaskulární léčbu – výsledky z registru CERBERUS. *Cesk Slov Neurol N* 2017;80(6):666-674.

Mrackova J, Rohan V, Geier P, Burianek V, Mracek J. Atrioesophageal fistula: a rare cause of brain embolization. *Acta Neurol Belg* 2018. Přijato do tisku.

Mracek J, Kletecka J, Holeckova I, Mork J, Dostal J, **Mrackova J**, Priban V. Patient satisfaction with general versus local anesthesia during carotid endarterectomy. *J Neurol Surg A* 2019. Přijato do tisku.

Mracek J, Kletecka J, Mork J, Stepanek D, Dostal J, **Mrackova J**, Priban V. Indications for general versus local anesthesia during carotid endarterectomy. *J Neurol Surg A* 2019. Přijato do tisku.

Mračková J, Růžicková T, Ševčík P, Karlíková M, Mraček J, Polívka J. Význam krevních biomarkerů u spontánního intracerebrálního krvácení – prospektivně zhodnocený soubor nemocných. *Cas Lek Cesk* 2019. Přijato do tisku.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala svému školiteli MUDr. Jiřímu Polívkovi, CSc. za důvěru, kterou do mne vkládal po celou dobu studia.

Další dík patří Oddělení imunochemické diagnostiky pod vedením prof. MUDr. Ondřeje Topolčana, CSc., především RNDr. Marii Karlíkové, Ph.D. za trpělivé zpracování vzorků a zodpovídání mých dotazů.

Děkuji svým mentorům a nejbližším kolegům MUDr. Petru Ševčíkovi, Ph.D. a MUDr. Vladimíru Rohanovi, Ph.D. za stálou pomoc a podporu při plnění mých pracovních i studijních povinností.

V neposlední řadě děkuji svému muži, který je mi oporou a vzorem a bez nějž by tato práce nikdy nevznikla, a také svému synu Vítkovi, který se podílel na úkolech mého doktorského studia, i když ještě nebyl na světě.

Studie, zpracování a prezentace výsledků byly podpořeny projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806 a SVV Univerzity Karlovy, Lékařské fakulty v Plzni, 260 390.